SYNTHESE DES ISOFERULASÄURECHOLINESTERS UND DES GLYKOSIDS HOLOCALIN

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde
des Fachbereichs Pharmazie
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Götz Fangerau

aus Itzehoe

Berlin 1976

SYNTHESE DES ISOFERULASÄURECHOLINESTERS UND DES GLYKOSIDS HOLOCALIN

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde
des Fachbereichs Pharmazie
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Götz Fangerau

aus Itzehoe

Berlin 1976

1.Berichterstatter: Prof.Dr.H.Möhrle
2.Berichterstatter: Prof.Dr.R.Gmelin
Tag der mündlichen Prüfung: 26. August 1976

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Die vorliegende Arbeit wurde am Pharmazeutischen Institut der Freien Universität Berlin auf Anregung und unter Leitung von Herrn Prof. Dr. H. Möhrle durchgeführt.

Für seine Unterstützung und fördernden Hinweise danke ich ihm sehr herzlich.

Herrn Prof. Dr. R. Gmelin danke ich für wertvolle Ratschläge.

Inhaltsverzeichnis

		Seite
Einleitung und Problemstellung		1
1.	Cholinester	
1.1.	Struktur der Cholinester und ihre Bedeutung	3
1.2.	Synthese des Isoferulasäurecholinesters	5
1.3.	Modellversuche zur Darstellung von Aminoäthanolestern aromatischer Hydroxycarbonsäuren	
1.3.1.	Umesterungsreaktion mit p-(Trimethylsilyloxy)-benzoesäuretrimethylsilylester	9
1.3.2.	Direkte Veresterung der Carbonsäuren unter Zusatz von Bortrifluorid-Ätherat-Komplex	13
2.	Synthese und Charakterisierung meta-substituierter Benzaldehydcyanhydringlucoside	
2.1.	Glykoside	15
2.2.	Cyanogene ß-Glykoside	
2.2.1	Hauptvertreter der cyanogenen ß-Glykoside	17
2.2.2.	Konfiguration im Chiralitätszentrum des Aglykons	19
2.2.2.1.	Konfigurationsbestimmungsmethoden	20
2.3.	Synthese der cyanogenen Glykoside nach der Koenigs-Knorr-Methode	22
2.3.1.	Acetonitril-Methode	25
2.4.	Cyanhydrin-Synthesen	
2.4.1.	Cyanhydrindarstellung über das Hydrogensulfit-Additionsprodukt	27
2.4.2.	Umsetzung des Aldehyds mit nascierendem Cyanwasserstoff	28

Seite

2.5. Synthese und Charakterisierung der acylierten 3-Hydroxybenzaldehydcyanhydringlucoside

2.5.1. α- und ß-Penta-O-acetylderivate 31

2.5.2. α- Tetra-O-acetylderivat 45

2.5.3. 2-Nitrobenzoylderivat 48

2.6. Darstellung der 3-Hydroxybenzaldehydcyanhydringlucoside

2.6.1. Die ß-glykosidischen Verbindungen Holocalin und Zierin 51

2.6.2. Die α-glykosidischen Verbindungen 57

2.7. 3-Nitrobenzaldehydcyanhydringlucoside

2.7.1. Die Tetra-O-acetylverbindungen 59

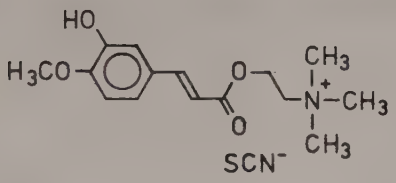
2.7.2. Die entacetylierten Verbindungen 65

Zusammenfassung 69

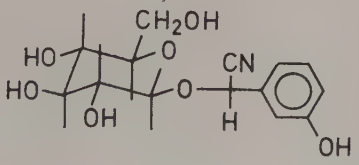
Beschreibung der Versuche 72

EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG

1) Von Gmelin und Kjaer[1] wurde ein neuer Vertreter der natürlichen Cholinester aus dem Samen der Crucifere Sibara virginica (L) Rollins isoliert und ihm aufgrund von Hydrolyseversuchen die Struktur des Isoferulasäurecholinester-rhodanids zugeschrieben.



2)Das Holocalin,ein cyanogenes ß-Glykosid ,war von Gmelin und Mitarbeitern [2] aus dem Samen von Holocalyx balansae Mich. isoliert worden.Aufgrund von Abbauversuchen wurde die Verbindung von den Autoren in die Amygdalingruppe eingeordnet.
In der Folgezeit wurden aber unterschiedliche Ansichten über die Konfiguration im Chiralitätszentrum des Acetonitrilanteils geäußert.



1) R.Gmelin und A.Kjaer,Phytochemistry 9,667 (1970)
2) R.Gmelin,M.Schüler und E.Bordas,Phytochemistry 12,457(1973)

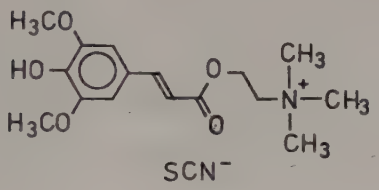
Ziel dieser Arbeit war es daher :

A) Zum endgültigen Konstitutionsbeweis des Isoferulasäure-cholinester-rhodanids eine unabhängige Synthese dieser Substanz durchzuführen und einen Vergleich mit dem Naturstoff vorzunehmen.

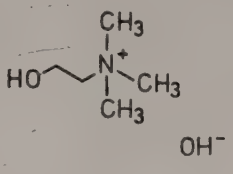
B) Eine Synthesemöglichkeit für das cyanogene ß-Glykosid Holocalin zu entwickeln und seine Struktur zweifelsfrei zuzuordnen.

1.1. Struktur der Cholinester und ihre Bedeutung

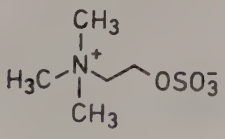
Die Strukturaufklärung der Cholinester erfolgte 1852 durch Babo und Hirschbrunn[3]. Sie erhielten bei der Hydrolyse des aus dem Samen des weißen Senfs (Sinapis alba (L)) isolierten Sinapinrhodanids (**1**),die Sinapinsäure,das Cholin (**2**) und den Rhodanwasserstoff.Die Konstitution der Säure als 3,5-Dimethoxy-4-hydroxyzimtsäure bestimmte Gadamer[4],während die Synthese von **1** erst 1920 von Späth[5] durchgeführt wurde.



1



2



3

Da die Alkoholkomponente **2** eine quartäre Ammoniumverbindung darstellt,liegen die Cholinester formal als quartäre Basen vor,die jedoch nur in Form ihrer Salze isolierbar und beständig sind. Während alle Cholinester mit organischer Säurekomponente als Salze formuliert werden,liegen die entsprechenden Ester mit anorganischem Säureanteil als Betaine (innere Salze),z.B. **3** vor[6].

---

3) L.v.Babo und M.Hirschbrunn,Justus Liebigs Ann.Chem. 84,10 (1852)
4) J.Gadamer,Arch.Pharm.(Weinheim) 235,93 (1897)
5) E.Späth,Monatsh.Chem. 41,271 (1920)
6) W.Karrer,Konstitution und Vorkommen der organischen Pflanzenstoffe,Birkhäuser Verlag,Basel und Stuttgart,1958

Bisher sind erst wenige Verbindungen dieser Naturstoffklasse aus Pflanzen isoliert und in ihrer Struktur aufgeklärt worden. Außer **1** handelt es sich hierbei um das Acetylcholin, das Propionylcholin und das Hesperalin [7], sowie um den Schwefelsäureester **3** und die Lecithine, die Cholinester der Phosphatide [6].

Von diesen natürlichen Cholinestern erlangte das Acetylcholin die weitaus größte Bedeutung, da mit seiner Hilfe in der Physiologie und Pharmakologie grundlegende Erkenntnisse über die Funktion des Nervensystems gewonnen worden sind [8].

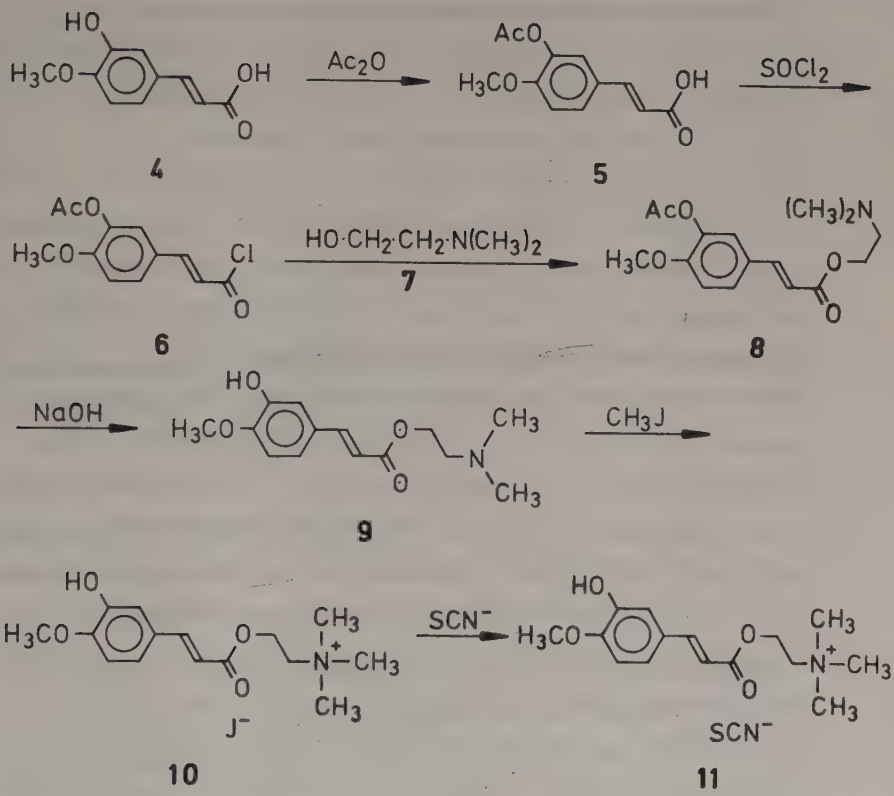
Acetylcholin ist als Neurotransmitter verantwortlich für die parasympatische Erregungsübertragung im Organismus. Seine Wirkung als blutdrucksenkendes und stark muskelkontrahierendes Arzneimittel ist nur von kurzer Dauer, da es im Organismus rasch durch Acetylcholinesterasen gespalten und damit inaktiviert wird. Daher sind stabilere Cholinester mit der gleichen pharmakologischen Wirkung synthetisiert und als Arzneimittel eingeführt worden [9].

Gmelin und Kjaer beschrieben die Isolierung eines neuen, natürlichen Cholinesters. Für diese Verbindung postulierten sie die Struktur eines Isoferulasäurecholinesters, da sie nach der Hydrolyse als Komponenten Cholin und die 3-Hydroxy-4-methoxyzimtsäure identifizieren konnten.

---

7) R. Gmelin und H. Möhrle, Arch.Pharm.(Weinheim) 300, 176 (1967)
8) O.Loewi, Pflüggers Arch.Ges.Physiol. 189, 239 (1921); ibid. 193, 201 (1921)
9) G. Ehrhart und H. Ruschig, Arzneimittel, 2.Aufl., 48, Verl.Chemie (Weinheim) (1972)

1.2. Synthese des Isoferulasäurecholinester-rhodanids



Als Ausgangsverbindung diente die Isoferulasäure (**4**),die zum Schutz der phenolischen Hydroxylfunktion in das Acetylderivat **5** überführt werden mußte , damit eine problemlose Umsetzung von **4** in das für die Veresterung erforderliche Säurechlorid **6** möglich war.

Da eine Verkürzung der Synthese von **11** durch direkte Veresterung des nach Meyer[10] dargestellten Säurechlorids **6** mit dem Cholin (**2**)

---

10) H.Meyer ,Monatsh.Chem. 22,415 (1901)

nach Schotten-Baumann wegen geringer Löslichkeit des quartären Alkohols **2** im organischen Lösungsmittel nicht möglich war,wurde **6** in Toluol gelöst und mit dem Alkohol **7** umgesetzt.
Diese Acylierungsreaktion erfolgte im basischen Milieu nach Einhorn[1] Zur Bindung des entstehenden Chlorwasserstoffes wurde der Aminoalkohol **7** in doppelt äquimolarer Menge zugegeben.
Nach 12stdg.Reaktionszeit wurde **8** aus dem Ansatz mit Äther extrahiert und direkt in den Ester **9** überführt.Dies gelang durch mehrmaliges Schütteln mit eiskalter 5proz.Natronlauge .Nur unter diesen Bedingungen konnte die Spaltung eines wesentlichen Anteils des Dimethylaminoäthanolesters verhindert werden.
Obwohl die Acetylgruppe unter den Schutzgruppen am leichtesten abzuspalten ist,erwies sie sich in unserem Fall nur als bedingt brauchbar,da ihre vollständige Verseifung unter den angegebenen Reaktionsbedingungen nicht zu erreichen war.Änderungen der Bedingungen durch Erhöhung der Temperatur und der Laugenkonzentration führten auch zur vollständigen Hydrolyse des Esters **9**.
Aus dem Methojodid **10** erfolgte die Darstellung des Rhodanids **11** durch Austausch der Anionen Jodid-Rhodanid.Da die Isolierung dieses Salzes **11** nach der Späth'schen Methode[5)] nicht gelang,wurde das Methojodid **10** über eine rhodanidbeladene Anionenaustauschersäule gegeben.

Die Struktur dieses synthetischen Isoferulasäurecholinesterrhodanids(**11**) wurde durch die elementaranalytischen,IR-und NMR-Daten eindeutig abgesichert.Dabei zeigte sich eine völlige Übereinstimmung dieser Werte mit denen des Naturstoffes, womit der

---

11) A.Einhorn und F.Holland,Justus Liebigs Ann.Chem.95,301 (1898)

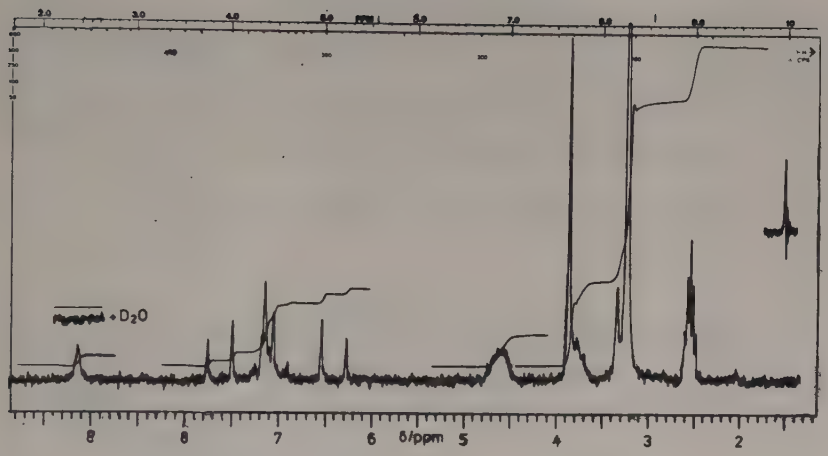


Abb. 1 : NMR-Spektrum von 11 (DMSO d_6)

Beweis für die Richtigkeit der von Gmelin und Kjaer für ihren neuen Cholinester 11 postulierten Struktur erbracht war.

Das in DMSO d_6 gemessene NMR-Spektrum (Abb. 1) des 4-Methoxy-3-hydroxyzimtsäuretrimethylaminoäthanolester-rhodanids (11) zeigt ein scharfes Singulett sowohl bei δ=3,23 ppm für die 9 Protonen der $-\overset{\oplus}{N}(CH_3)_3$-Gruppe als auch bei δ= 3,87 ppm für die drei Protonen der Methoxy-Gruppe des Aromaten. Erwartungsgemäß lassen sich die beiden Methylengruppen des Esters aufgrund ihrer Lage sehr gut unterscheiden. Während das Triplett bei δ= 3,80 ppm der Methylengruppe, benachbart dem Stickstoff, zuzuordnen ist, erscheint die am Carboxylsauerstoff gebundene $-CH_2$-Gruppe bei tieferem Feld als Multiplett bei δ= 4,60 ppm. Dem Signal mit der Intensität 3 bei δ = 6,9-7,3 ppm sind die 3 aromatischen Protonen zuzuordnen.

Die beiden olefinischen Protonen erscheinen als Dubletts bei δ = 6,25/6,53 und 7,48/7,75 ppm mit der für transständige, olefinische Protonen charakteristischen vicinalen Kopplungskonstanten von J_{trans} = 16 Hz. Von diesen beiden Protonen kommt das dem Aromaten benachbarte aufgrund des Anisotropieeffektes des Benzolringes bei tieferem Feld. Das phenolische Proton liegt bei δ = 9,17 ppm und wird bei D_2O-Zugabe ausgetauscht.

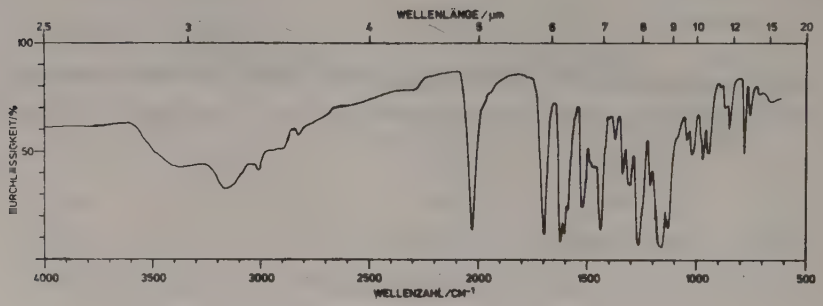


Abb. 2 : IR-Spektrum von **11** (KBr)

Das IR-Spektrum war erwartungsgemäß charakterisiert durch das Auftreten der Schlüsselbanden bei 2025 cm^{-1} für das Rhodanidion, bei 1695 cm^{-1} für die CO-Valenzschwingung des Esters und bei 1625 cm^{-1} für die C=C-Valenzschwingung der olefinischen Doppelbindung, die in Konjugation zum aromatischen Ring steht. Das Spektrum ist deckungsgleich mit dem einer authentischen Probe des Naturproduktes.

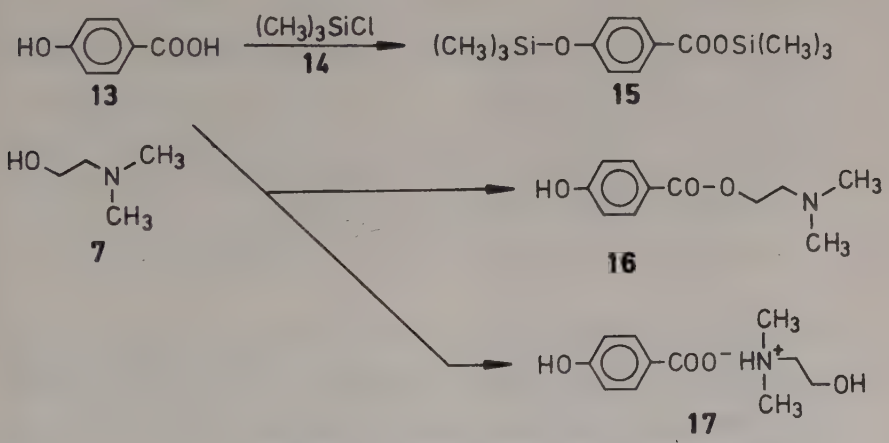
Nach mehrmaliger Umkristallisation aus Wasser ergab das synthetische Produkt einen Schmelzpunkt von 154,2°C, den das authentische Naturprodukt ebenfalls zeigte.

1.3.1. Umesterungsreaktion mit p-(Trimethylsilyloxy)-benzoesäuretrimethylsilylester

Als Ausgangsbasis dienten die Arbeiten von Friedel und Ladenburg[12] sowie von Petrov[13], die über die Darstellung von Estern durch Umsetzung von Acyloxysilanen 12 mit Alkoholen berichten.

$$\underset{\mathbf{12}}{Si(OAc)_n} + n\,ROH \longrightarrow n\,AcOR + Si(OH)_n \qquad n=1\text{-}3$$

In Anlehnung daran stellten wir von der p-Hydroxybenzoesäure (**13**) den Silylester 15 dar, der dann im zweiten Reaktionsschritt mit dem Alkohol 7 zum Ester umgesetzt werden sollte.



Zur Synthese des Silylesters nach der Müller-Rochow-Methode[14] war der Schutz der phenolischen Hydroxylgruppe nicht notwendig, da durch Verwendung von 2 Mol Trimethylchlorsilan (**14**) diese Gruppe gleichzeitig in einen Trimethylsilyläther überführt wurde.

---

12) C. Friedel und A. Ladenburg, Justus Liebigs Ann.Chem. 145, 175 (1868)
13) K.D.Petrov, J.Gen.Chem.USSR 17, 1099 (1947)
14) R.Müller, D.B.P. C.57411 (1952) ; E.G.Rochow, US-Pat.2380995 (1945), C.A. 39, 4889 (1945)

Diese zweite Silylgruppe erleichterte einerseits die Isolierung des Esters **15** durch Destillation, andererseits aber war die Hydrolyse dieser Schutzgruppe noch während der Umesterungsreaktion zu erwarten, sodaß der freie Ester **16** direkt aus dem Reaktionsansatz isoliert werden konnte. Die Umsetzung von **15** erfolgte durch 5stdg. Erhitzen unter Rückfluß.

Aus dem Reaktionsgemisch erhielten wir durch Ausschütteln nach dem Stas-Otto-Trennungsgang den erwarteten Ester **16** nur in ganz geringer Ausbeute, während das in Äther unlösliche Salz **17** neben der p-Hydroxybenzoesäure (**13**) als Hauptkomponente isoliert wurde. Die Bildung dieser Verbindung ließ nun darauf schließen, daß bei dieser Umesterungsreaktion vorrangig eine irreversible Spaltung des Silylesters durch den als Base wirkenden Aminoalkohol **7** eintrat, sodaß keine Esterbildung mehr möglich war.

Die Struktur von **17** wird bereits durch das in KBr aufgenommene IR-Spektrum charakterisiert. So finden wir die für Carboxylat-Ionen typische Bande bei 1595 cm^{-1}, sowie die für Ammoniumverbindungen kennzeichnende Bande von 2300-2700 cm^{-1}.

Die Konstitution von **17** wurde durch direkte Darstellung aus **7** und **13** gesichert.

Die Struktur des Silylesters (**15**) ist durch das in $CDCl_3$ aufgenommene NMR-Spektrum (Abb. **3**) bewiesen. Charakteristisch sind die beiden Resonanzsignale bei δ=0,30 ppm und δ=0,40 ppm, die in der gegebenen Reihenfolge dem 9-Protonen-Singulett der Silyläthergruppe sowie der erwartungsgemäß bei tieferem Feld liegenden Silylesterfunktion zuzuordnen sind. Typisch für den para-disubstituierten Aromaten ist das AA'BB' Multiplett, bei dem der AA'-Teil als Dublett, unter dem Einfluß der Carbonylfunktion

Abb. **3**: NMR-Spektrum von **15** ($CDCl_3$)

zu tieferem Feld verschoben, bei δ=7,94 ppm liegt, während das Dublett des BB'-Teils bei δ=6,85 ppm erscheint. Der aromatische Charakter dieses "Quartetts" wird durch die vier zusätzlichen "innere Linien" angezeigt.

Entsprechend zeigt das NMR-Spektrum (Abb.**4**) von **16** im aromatischen Bereich von δ = 6,80 - 8,00 ppm das gleiche Multiplett für den para- - substituierten Aromaten. Dem an der Basis breiten Singulett bei δ = 6,10 ppm ist das OH-Proton zuzuordnen, das nach Zugabe von D_2O nicht mehr registriert wird. Die Tripletts bei δ= 4,40 ppm und δ = 2,85 ppm sind in der gegebenen Reihenfolge den Methylenprotonen, benachbart dem Carboxylsauerstoff sowie dem Stickstoff, zu-

zuordnen, während das 6-Protonen-Singulett bei $\delta = 2{,}35$ ppm den beiden Methylgruppen entspricht.

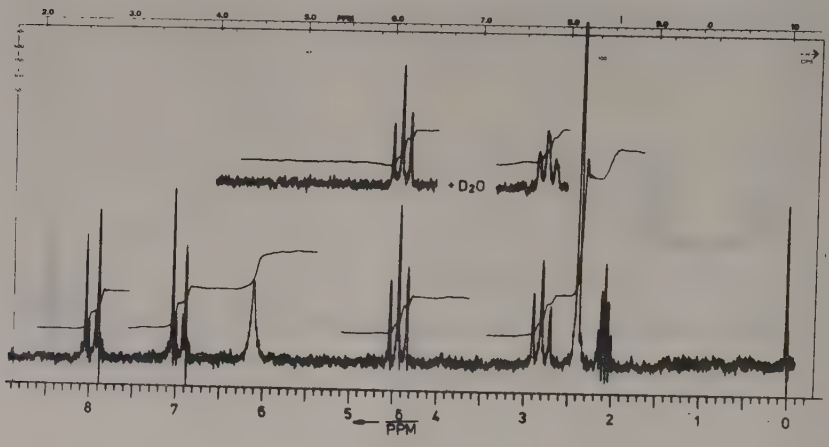
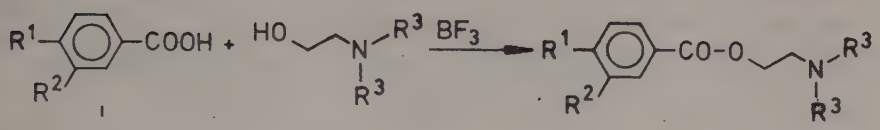


Abb. 4: NMR-Spektrum von 16 (Aceton d_6)

1.3.2. Direkte Veresterung der p-Hydroxybenzoesäure unter Zusatz von Bortrifluorid-Ätherat-Komplex



	R^1	R^2
13	OH	H
13a	H	OH
13b	NH_2	H

	R^3
7	CH_3
7a	C_2H_5

	R^1	R^2	R^3
16	OH	H	CH_3
16a	H	OH	CH_3
16b	NH_2	H	CH_3
16c	OH	H	C_2H_5

Bei dieser Umsetzung ist nach Sowa und Nieuwland[15] die Esterbildung abhängig von der eingesetzten Menge an Bortrifluorid. Das zur Darstellung substituierter, aromatischer Carbonsäurealkylester[16] günstige Verhältnis Veresterungsreagenz-Säure von 1:1 führte in unserem Fall nicht zum Erfolg, da zuerst der Stickstoff von 7 einen kovalenten Komplex mit Bortrifluorid bildet, sodaß die zur Veresterung notwendige Menge an Reagenz nicht mehr vorhanden ist. Erst nach Zugabe von zwei weiteren Mol Bortrifluorid, als Ätherat-Komplex eingesetzt, trat die Esterbildung ein, die außerdem zeit- und temperaturabhängig war. Gute Ausbeuten erhielt man nach 5,5stdg. Erhitzen bei 155°C. Temperatursenkung und Zeitverkürzung führten zu erheblichen Ausbeuteverminderungen.

15) F.J.Sowa und J.A.Nieuwland, J.Amer.Chem.Soc. 58, 1271 (1936)
16) G.Hallas, J.Chem.Soc. 1965, 5770

Aufgrund dieser Ergebnisse erschien nun die Darstellung des ß-Dimethylaminoäthanolisoferulasäureesters (**9**) in nur einem Reaktionsschritt möglich. Aus dem unter gleichen Bedingungen ausgeführten Ansatz konnte der Ester **9** jedoch nur dünnschichtchromatographisch nachgewiesen werden. Weder das Arbeiten in homogener Phase noch das Variieren der Zeit und der Temperatur führten zu einem präparativ verwertbaren Erfolg.
Aus allen Ansätzen, die bei Temperaturen bis 85°C umgesetzt wurden, konnte die Isoferulasäure (**4**) zurückgewonnen werden, während bei höheren Temperaturen nur Zersetzungsprodukte isoliert werden konnten. Auffällig war bei diesen Verbindungen die violette Farbe, die erst während der Umsetzung entstand.
Wie weitere Untersuchungen ergaben, konnte sowohl von der 3-Hydroxybenzoesäure als auch von der p-Aminobenzoesäure die entsprechenden Ester **16a** und **16b** in guten Ausbeuten gewonnen werden, genauso wie der Diäthylaminoäthanolester der p-Hydroxybenzoesäure (**16c**).

Im Gegensatz dazu verliefen die Umsetzungen der Zimtsäure mit dem Aminoalkohol **7** negativ. Außer der Ausgangsverbindung wurde eine zweite Verbindung in geringer Ausbeute isoliert, bei der es sich aber nach Aussage des NMR-Spektrums eindeutig nicht um den erwarteten Zimtsäureester handelte.
Damit ist eine weitere Methode zur Darstellung von Aminoäthanolestern aromatischer Carbonsäuren beschrieben[17], die jedoch nach unseren Untersuchungen nicht geeignet scheint zur Darstellung der Zimtsäureester und seiner homologen Derivate.

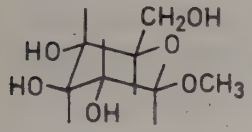
---

17) J.Büchi, H.K.Bruhin und X.Perlia, Arzneim.Forsch. 21, 1003 (1971)

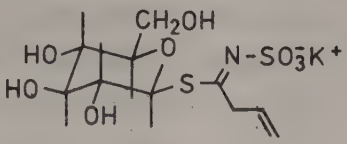
2. Synthese und Charakterisierung meta-substituierter Benzaldehydcyanhydringlucoside

2.1. Glykoside

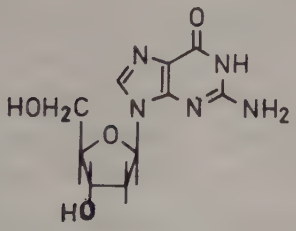
Unter Glykosiden versteht man im allgemeinen Verbindungen, die sich aus einem Zuckeranteil und einer zweiten, nicht zuckerhaltigen Komponente zusammensetzen, die als Aglykon oder Genin bezeichnet wird.



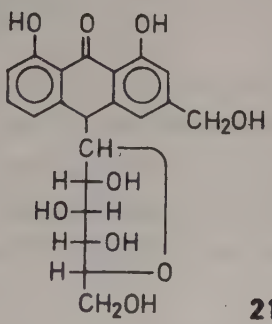
18



20



19



21

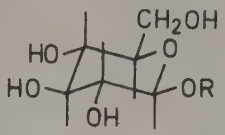
Die glykosidische Verknüpfung dieser Komponenten erfolgt über die halbacetalische Hydroxylgruppe des Zuckers. Je nach der chemischen Konstitution des Aglykons unterscheidet man O-(**18**), N-(**19**) und S-(**20**) Glykoside und differenziert diese von den sog. Glykosyl-Verbindungen (**21**)[18] (unglücklicherweise auch "C-Glykoside" genannt).

---

18) E.Steinegger und R.Hänsel, Lehrbuch der Pharmakognosie, S.104, 2.Aufl., Springer Verlag, Berlin Heidelberg New York 1968

Als Kohlenhydratanteil kommen hauptsächlich Mono-, seltener Di-, Tri- oder Polysaccharide vor. Bei den Monosacchariden handelt es sich außer den bekannten Hexosen und Pentosen noch um verschiedene Desoxyzucker, die ausschließlich in Glykosiden zu finden sind.

Die D-(+)-Glucose ist dabei am häufigsten vertreten. Da sie wie alle Zucker grundsätzlich in der cyclischen Halbacetalform vorliegt, weist sie im Vergleich zur offenen Aldehydform ein weiteres Chiralitätszentrum auf und bildet zwei Isomere, die α- und ß-D-(+)-Glucose. Diese Diastereomere, auch als "Anomere" bezeichnet, unterscheiden sich nur in der Konfiguration am C-1 [19].



22

Von den entsprechenden Glucosiden kommen in der Natur fast ausnahmslos die ß-Derivate **22** vor, da nur sie in der energetisch günstigeren Konformation mit äquatorialer Hydroxymethylgruppe die alläquatoriale Anordnung der sperrigen Substituenten besitzen.

---

19) L.F.Fieser und M.Fieser, Lehrbuch der organischen Chemie, 4.Aufl., S.1148, Verlag Chemie, Weinheim 1960

2.2. Cyanogene ß-Glykoside

2.2.1. Hauptvertreter der cyanogenen ß-Glykoside

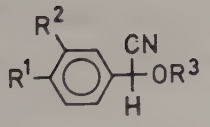
Von den vier Klassen der Glykoside und Glykosyl-Verbindungen stellen die O-Glykoside die zahlreichsten Vertreter. Aufgrund der heterogenen Konstitution der Aglykone werden sie in acht Gruppen unterteilt, von denen die cyanogenen Glykoside eine darstellen.

Diese cyanogenen Glykoside kommen in über 800 Arten von Pflanzen vor, die sich über 70 bis 80 Familien verteilen[20]. Trotzdem sind erst 20 Verbindungen dieser Naturstoffgruppe bekannt. Sie besitzen als Aglykon jeweils ein Cyanhydrin-Derivat, dessen α-ständige Hydoxylfunktion immer ß-glykosidisch mit dem Zucker verbunden ist. Nur im Nandina, als einzige Ausnahme liegt ein α-Hydroxynitril frei vor[21].

Als Zuckerkomponente fungiert fast ausnahmslos ß-D- (+)-Glucose, lediglich beim Amygdalin, Vicianin und Lucumin treten Disaccharide auf.

Diese Naturstoffe kann man in vier Sektionen unterteilen[23].

1)



R^1 = H, OH
R^2 = H, OH, $CH(CH_3)_2$
R^3 = Glucose, Disaccharid-Rest

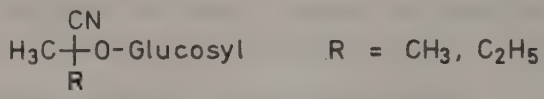
Glykoside des 2-Hydroxy-2-phenyl-acetonitrils und der Derivate

---

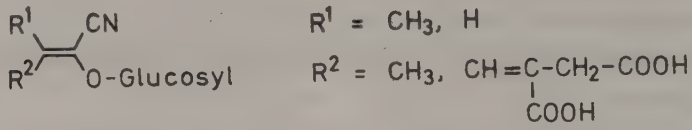
20) R.Eyjólfsson, Fort.der Chem.Org.Naturst.28, 74 (1971)
21) Y.P.Abrol, E.E.Conn und J.R.Stoker Phytochemistry 5, 1021 (1966)
22) R.Hegnauer, Pharm.Acta Helv.46, 585 (1972)

mit hydroxyliertem oder alkyliertem Aromaten stellen den "Amygdalin-Typ" dar. Dabei handelt es sich um das Amygdalin, Vicianin, Lucumin Prunasin, Sambunigrin, Taxiphyllin, Dhurrin, Holocalin, Zierin, Protecain und das Nandina-Glykosid.

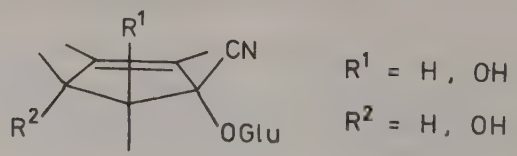
2. Bei dem "Linimarin-Typ" handelt es sich um Verbindungen mit gesättigtem, aliphatischem Aglykon. Vertreter dieses Typs sind das Linimarin und das Lotausstralin.



3. Der "Acacipetalin-Typ" weist im Aglykon eine aliphatische ungesättigte Komponente auf, von der nur vier Vertreter bekannt sind, das Acacipetalin, das Triglochinin und sein Methylester sowie das Cardiospermin.

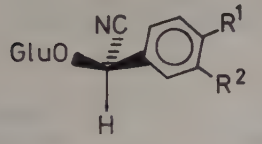


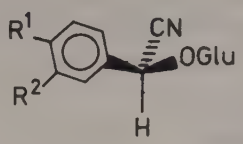
4. In der vierten Sektion finden wir den " Gynocardin-Typ", bei dem das Aglykon ein ungesättigtes alicyclisches Fünfring-Derivat darstellt. Das Gynocardin, das Baterid und das Deicalin sind hier die einzigen, bisher bekannten Naturstoffe.



2.2.2. Konfiguration im Chiralitätszentrum des Aglykons

Liegt im Cyanhydrin ein Asymmetriezentrum vor, so sind für die Glykoside zwei isomere Formen möglich, die sich nur in der Konfiguration am Kohlenstoff dieses α-Hydroxynitrils unterscheiden, und nach der sie der R-oder S-Reihe zugeordnet werden.
Dies trifft für alle Vertreter des "Amygdalin-Typs", des "Gynocardin-Typs" und für das Lotaustralin zu, nicht aber für das Linimarin und für die Glykoside des "Acacipetalin-Typs".





	R^1	R^2
23 R	H	H
24 R	OH	H
25 R	H	OH

	R^1	R^2
23 S	H	H
24 S	OH	H
25 S	H	OH

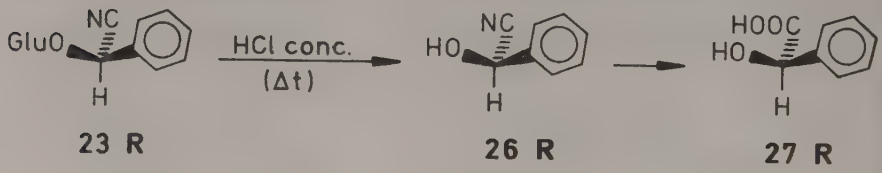
Von den Benzaldehydcyanhydringlykosiden, den Vertretern des "Amygdalin-Typs" sind erst zwei Diastereomerenpaare bekannt. Die Konfiguration dieser Paare ist bestimmt worden; es handelt sich hierbei um Prunasin (R)/Sambunigrin (S) (**23 R / 23 S**)[22] und Taxiphyllin (R)/Dhurrin (S) (**24 R/ 24 S**)[23]. Zu dem bereits bekannten 3-Hydroxybenzaldehydcyanhydringlykosid Zierin (**25 S**)[24] fehlte bisher das ergänzende Diastereomere, das Holocalin (**25 R**)[2].

22) E.Fischer und M.Bergmann, Ber.Dtsch.Chem.Ges. 50, 1047 (1917)
23) G.H.N.Towers, A.G.McInnes und A.C.Neish, Tetrahedron 20, 71 (1964)
24) H.Finnemore und J.M.Cooper, J.Proc.Roy.Soc.N.S.Wales 70, 175 (1936)

2.2.2.1. Konfigurationsbestimmungsmethoden

Zur Bestimmung der Konfiguration im chiralen Zentrum des Cyanhydrins können mehrere Verfahren angewandt werden.

1) Bei der Hydrolyse des Glykosides mit konzentrierter Säure entsteht bei der Spaltung der glykosidischen Bindung aus dem Cyanhydrin **26 R** die korrespondierende Säure **27 R**, ohne daß eine Racemisierung am asymmetrischen C-Atom eintritt, sodaß die in **27 R** vorliegende Konfiguration der des Glykosides **23 R** entspricht.

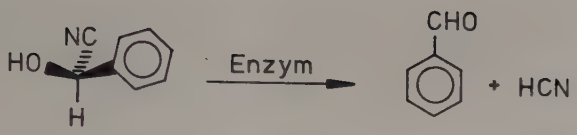


23 R **26 R** **27 R**

Die Darstellung der Carbonsäure gelingt auch durch Erhitzen des Glykosides mit Bariumhydroxid und anschließender saurer Hydrolyse des Cyanhydrin. Das isolierte Endprodukt liegt aber als Racemat vor, da cyanogene Glykoside bei Alkalibehandlung leicht racemisieren[20].

2)Grundsätzlich werden alle Cyanhydrin-ß-Glykoside durch ß-D-Glykosidasen gespalten[25]. Im Emulsin,einer ß-Glucosidase aus bitteren Mandeln, ist außerdem eine Hydroxynitril-Lyase mit stereospezi-

25) R.Weidenhagen,Ergeb.Enzymforsch.1,197(1932)



26 R

fischer Wirkung auf D-Hydroxynitrile gefunden worden, die z.B. nur aus dem D-Mandelnitril (**26 R**) Cyanwasserstoff freisetzt[26].

3.Konfigurationsbestimmung durch vergleichende NMR-Spektroskopie[21], sowie Trennung und Zuordnung von Isomerengemischen mit Hilfe der Gaschromatogaphie[27].

---

26) W.Becker und E.Pfeil,Naturwissenschaften 51,193(1964)
27) A.Nahrstedt,Planta med.24,83(1973)

2.3. Synthese von O-Glykosiden nach der Koenigs-Knorr-Methode

Zur Darstellung der O-Glykoside werden nach der Koenigs-Knorr-Methode [28] Alkohole mit peracylierten Halogenzuckern unter Verwendung von Katalysatoren umgesetzt. Als Zuckerkomponenten dienen hauptsächlich die α-Halogenosen, z.B. **28**, da sie thermodynamisch stabilere Verbindungen sind als die ß-Derivate[29]. Man erhält bei diesem Verfahren bevorzugt ß-Glykoside, z.B. **29**, deren Bildung aus dem α-Zucker unter Walden-Inversion am C-1 des Zuckers erfolgt[30].

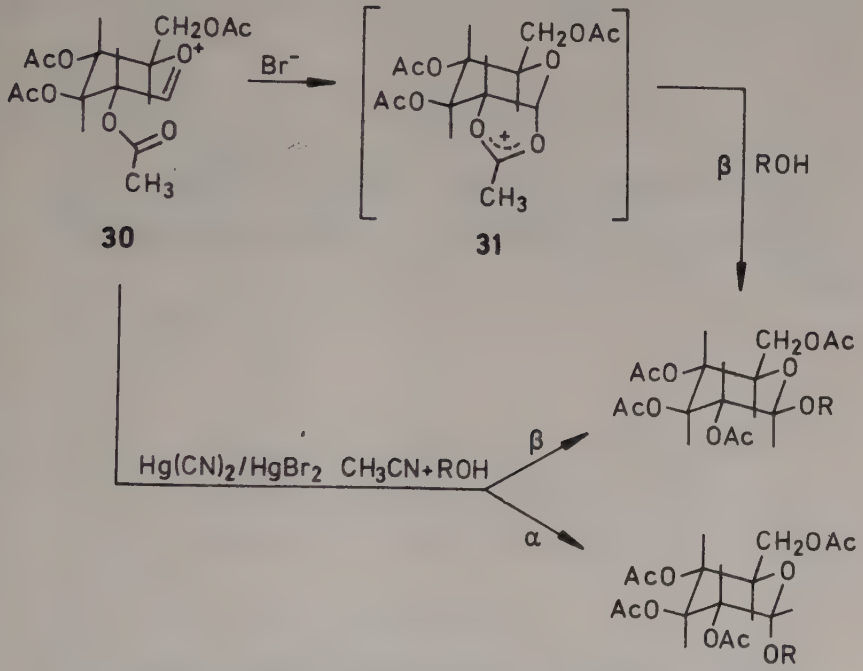
28 **29**

Bei diesen Reaktionen ist die Wahl der Katalysatoren entscheidend für die stereospezifische Bildung von Glykosiden. Die Umsetzung kann einerseits mit unlöslichen Silbersalzen, andererseits mit löslichen Katalysatoren in homogener Phase [31] erfolgen. Während nach Wulff[32] für die Umsetzung mit einigen Silbersalzen ein modifizierter S_N-2 Mechanismus formulierbar ist, der die begünstigte Bildung von ß-Glykosiden am einfachsten erklärt, muß bei der Glykosylierung mit löslichen Katalysatoren ein

---

28) W.Koenigs und E.Knorr, Ber.Dtsch.Chem.Ges. 34, 957 (1901)
29) E.L.Eliel, Angew.Chem. 84, 779 (1972)
30) H.S.Isbell und H.L.Frush, J.Res.Nat.Bur.Standards 43, 161 (1949)
31) B.Helferich und K.Weis, Chem.Ber. 89, 314 (1956)
32) G.Wulff, G.Röhl und W.Krüger, Angew.Chem. 82, 480 (1970)

S_N-1 Mechanismus angenommen werden, der durch die leichte Bildung des mesomeriebegünstigten Glykosyl-Kations 30 bewiesen scheint[33]. Damit wäre grundsätzlich die Bildung von α- und ß-Glykosiden möglich.



Da aber bei den peracylierten 1-Bromzuckern 28 die Ausbildung eines Acyl-Oxonium-Ions 31 durch Nachbarbeziehung erfolgt, entstehen im allgemeinen über diese Zwischenstufe stereospezifisch ß-Glykoside [34]. Neben dem Silberperchlorat und Pyridiniumperchlorat werden vornehmlich lösliche Quecksilbersalze eingesezt[35,36].

---

33) B.Lindberg, Acta Chem.Scand.1, 710(1947)
34) G.Wulff und G.Röhle, Angew.Chem.86, 173(1974)
35) H.Bredereck, A.Wagner, D.Geissel, P.Gross, U.Hutten und H.Ott, Chem Ber. 95, 3056(1962)
36) B.Helferich und K.F.Wedemeyer, Justus Liebigs Ann.Chem. 563, 139(1949)

Erfolgen diese Reaktionen aber in stark polaren Lösungsmitteln wie Nitromethan oder Acetonitril, unter Verwendung des Quecksilbercyanids/Quecksilberbromid-Gemisches, können α- und ß-Glykoside entstehen, da aufgrund der Komplexbildung des Glykosyl-Kations **30** mit den Anionen der Katalysatoren die Ausbildung von **31** verhindert wird[37].

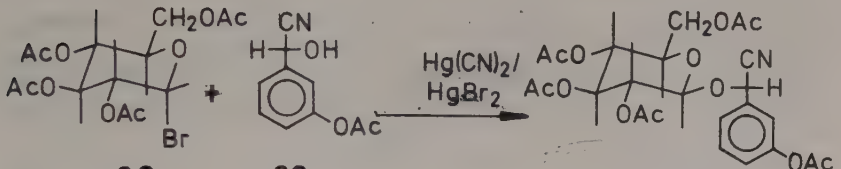
Weiterhin ist unter den jeweiligen Bedingungen bevorzugte Bildung von α- und ß-Glykosiden abhängig von der Struktur und Reaktionsfähigkeit des betreffenden Alkohols. So liefern z.B. primäre Alkohole trotz Verwendung des Quecksilbersalzgemisches vorwiegend ß-Glykoside[38].

---

37) B. Helferich und W.Ost, Chem Ber. 95, 2612 (1962)
38) B. Helferich und O.Arndt, Justus Liebigs Ann.Chem. 686, 206 (1965)

2.3.1. Acetonitril-Methode

Als Ausgangsstoffe zur Synthese des ß-glykosidischen Holocalins (**25 R**) über sein Penta-O-acetat (**36 R**) setzten wir als Alkoholkomponente das 3-Acetoxybenzaldehydcyanhydrin (**32**) mit dem 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl- α-D-glucopyranosylbromid (**28**) um.



28 **32** **36 R/S**

Da bei der Verwendung von Silbersalzen als Kondensationsmittel eine Reaktion dieser Salze mit dem Hydroxynitril **32** nicht auszuschließen war, führten wir die Umsetzung mit löslichen Katalysatoren durch.

Hierzu boten sich drei Möglichkeiten an :

1) Umsetzung der beiden Komponenten mit Quecksilbercyanid in Nitromethan[39].
2) Verwendung des für die Bildung von ß-Glykosiden günstigen Lösungsmittelgemisches Nitromethan/Benzol bei gleichem Katalysator wie unter 1)[34].
3) Einsatz des Quecksilbercyanid/Quecksilberbromid-Gemisches in Acetonitril , wobei prinzipiell α- und ß-Glykoside entstehen können[37].

---

39) H.Kofod und R.Eyjólfsson, Tetrahedron Lett.5394 (1966)

Die Entscheidung, die Synthese unter den bei 3) formulierten Reaktionsbedingungen durchzuführen, fiel nach der Prüfung aller drei dargestellten Ansätze auf ihren Gehalt an cyanogenen ß-Glykosiden. Die Prüfung erfolgte nach der "Sandwich-Methode"[40] mit Feigl-Anger-Reagenzpapier.

Zur Durchführung dieses Testes wurde nach Abtrennung der Quecksilbersalze der Ansatz mit ammoniakalischer Methanollösung entacetyliert, da nur das freie Glykosid enzymatisch gespalten werden kann. Der nach der Aufarbeitung erhaltene Rückstand wurde dünnschichtchromatographisch aufgetrennt. Man besprühte die DC-Platte mit Roh-Emulsin-Lösung und deckte sie mit einem Nylontuch ab, auf welches das mit Benzidinacetat/Kupferäthylacetoacetat imprägnierte Papier gelegt wurde. Nach ca. 15 Minuten trat eine Blaufärbung auf, die spezifisch für ß-Glykoside ist, da das Enzym Emulsin nur diese glykosidische Bindung spalten kann. Aus dem intermediär freigesetzten Cyanhydrin entweicht der Cyanwasserstoff, der diese Färbung bewirkt.

Während bei den nach 1) und 2) dargestellten Ansätzen die Bildung von cyanogenen ß-Glykosiden nicht ausgeschlossen werden konnte, fiel der Test bei dem Ansatz nach 3) eindeutig positiv aus.

Aufgrund dieser Ergebnisse entschlossen wir uns die Synthese des Holocalinpentaacetats (**36 R**) nach dieser Methode auszuführen, trotz der Tatsache, daß unter diesen Reaktionsbedingungen die Bildung von α-Glykosiden begünstigt ist, wodurch die Isolierung der ß-glykosidischen Derivate erschwert wird.

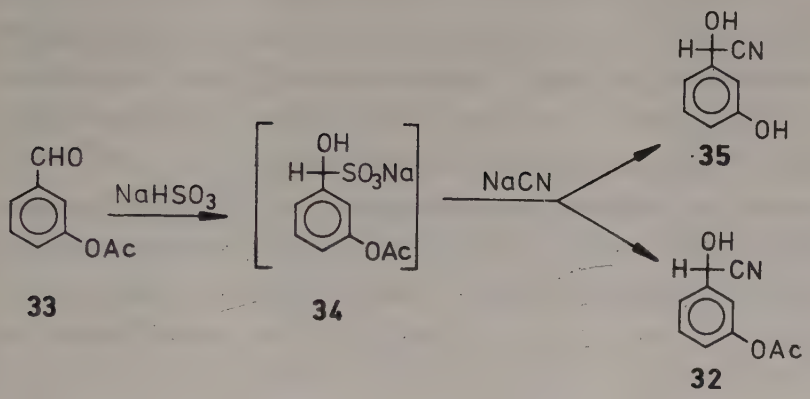
---

40) B.Tantisewie, H.W.L.Ruijgrok und R.Hegnauer, Pharm.Weekblad 104, 1341 (1969)

41) F.Feigl und V.Anger, Analyst. 91, 282 (1966)

2.4. Darstellung der Cyanhydrine

2.4.1. Variante A: Cyanhydrin-Darstellung über das Hydrogensulfit - Additionsprodukt



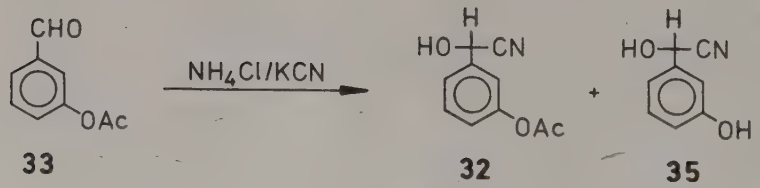
Das 3-Acetoxybenzaldehydcyanhydrin (**32**) wurde nach der von Buch [42] vereinfachten Synthese von Meister [43] dargestellt. Hierbei wird auf die Isolierung des Hydrogensulfit-Additionsproduktes **34** verzichtet, da es direkt in der eisgekühlten, wässrigen Lösung nach Zugabe von Äther mit der äquimolaren Menge an Natriumcyanidlösung umgesetzt wurde. Nach 1stdg. Reaktionszeit wurde aus der Ätherphase, nach mehrmaligem Gegenschütteln mit 10proz. "Natriummetabisulfitlösung" zur Entfernung von **33**, das Cyanhydrin **32** nach dem Einengen als gelbliches Öl isoliert.
Dünnschichtchromatographisch wurde ein zweiter Stoff nachgewiesen, den wir als 3-Hydroxybenzaldehydcyanhydrin (**35**) identifizieren

42) A. Buch, J. Amer. Chem. Soc. 55,3388 (1935)
43) O. Meister, Ber. Dtsch. Chem. Ges. 4, 980 (1871)

konnten.Durch Detektion der DC-Platte mit Vanillin/Schwefelsäure und durch Nachweis des Cyanwasserstoffes mit Feigl-Anger-Reagenzpapier wurde die Verbindung eindeutig charakterisiert.Das nach gleicher Methode aus dem 3-Hydroxybenzaldehyd synthetisierte Cyanhydrin 35 hatte den gleichen Rf-Wert und ergab dieselben Reaktionen.

Eine Trennung dieses Gemisches 35/32 nach dem Stas-Otto-Gang war aufgrund der Alkalilabilität der Cyanhydrine nicht möglich.Auch der Trennungsversuch durch Destillation unter Zusatz von Stabilisatoren[44] verlief erfolglos,da Zersetzung eintrat.
Die bei der Umsetzung nebenherlaufende Entacetylierung kann nur durch den,nach Zugabe der Natriumcyanidlösung stark alkalischen pH der wässrigen Phase erklärt werden,aus der das Cyanhydrin laufend mit dem organischen Lösungsmittel extrahiert wird.

2.4.2. Variante B : Umsetzung des Aldehyds mit nascierendem Cyanwasserstoff



33 32 35

Bei dieser Darstellung von aromatischen Cyanhydrinen nach Albert[45] erfolgte die Bildung des Cyanhydrins 32 nicht in der wässrigen,

44) Organikum,S.495,9.Aufl.,VEB Deutscher Verlag der Wissenschaften Berlin 1969
45) A.Albert,Ber.Dtsch.Chem.Ges.49 ,1383 (1916)

sondern in der organischen Phase. Der bei der Umsetzung des Ammoniumchlorids mit dem Kaliumcyanid freiwerdende Cyanwasserstoff reagierte mit dem in Äther gelösten Aldehyd **33**, wobei der entstehende Ammoniak eine Entacetylierung nicht bewirken sollte. Jedoch war auch hier nur ein Gemisch der beiden Cyanhydrine **32**/**35** zu isolieren.

Dies kann nur auf die Hydrolyseempfindlichkeit der Phenolacetatgruppe zurückgeführt werden. Auf die Möglichkeit, durch Einführung eines aromatischen Carbonsäurerestes als Phenolschutzgruppe, ein einheitliches Cyanhydrin zu gewinnen, wurde zunächst verzichtet, da bei der Verseifung dieser Aracylgruppe eine parallel herlaufende Spaltung des entsprechenden Cyanhydringlykosides nicht ausgeschlossen werden konnte.

Da auch die dritte Möglichkeit zur Darstellung von **32** nach Küng [46] durch Umsetzung des Aldehyds **33** mit einem leicht zugänglichen Cyanhydrin (in unserem Fall Acetoncyanhydrin) nicht erfolgreich war, setzten wir dieses nicht analysenreine 3-Acetoxybenzaldehydcyanhydrin (**32**) als Alkoholkompenente in die Synthese ein.

Das IR-Spektrum des 3-Acetoxybenzaldehydcyanhydrins (**32**), aufgenommen in $CHCl_3$, wird durch die breite Bande bei 3345 cm^{-1} für die assoziierten OH-Valenzschwingungen neben einer schwachen Bande bei 3575 cm^{-1} für das freie OH charakterisiert, sowie durch die der Acetylgruppe zuzuordnenden Bande bei 1745 cm^{-1}. Eine CN-Absorption im Bereich zwischen 2200-2260 cm^{-1} zeigt dieses Cyanhydrin nicht, in Übereinstimmung mit Bellamy[47].

---

46) F.E.Küng, US-Pat. 2259167 (C.I, 698, 1944)
47) L.J.Bellamy, Ultrarot-Spektrum und chemische Konstitution, S.209, Verlag von Dr.Dietrich Steinkopff, Darmstadt 1955

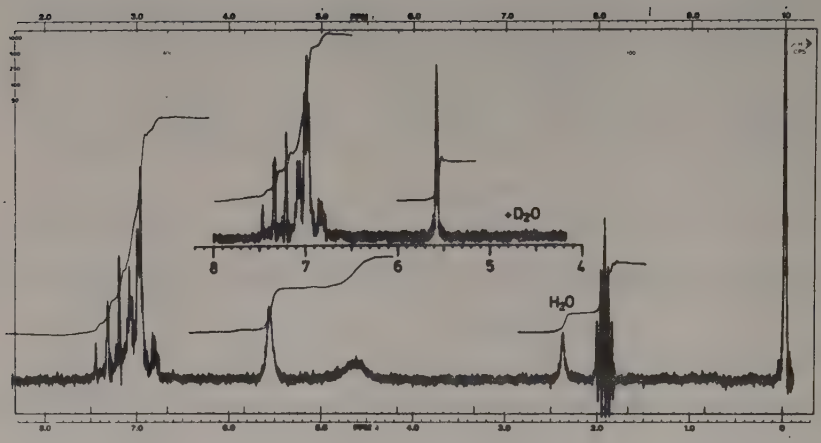


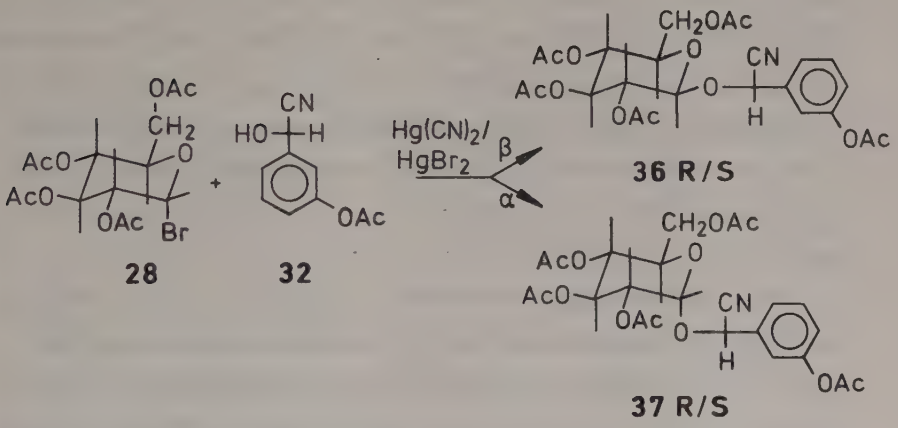
Abb. 5: NMR-Spektrum von **35** (CD_3CN)

Die Struktur des einheitlichen 2-Hydroxy-2-(3-hydroxyphenyl)-acetonitrils (**35**) wurde durch das in CD_3CN aufgenommene NMR-Spektrum eindeutig bestätigt. Es weist zwei mit D_2O austauschbare Protonen bei $\delta = 4,6$ ppm und $\delta = 7,1$ ppm (unter den aromatischen Protonen) auf, die wie vorgegeben, der Hydroxylfunktion des Cyanhydrins und der phenolischen Gruppe zuzuordnen sind. Das Methinproton erscheint als Singulett bei $\delta = 5,58$ ppm, während das Multiplett von $\delta = 6,75 - 7,70$ ppm den vier aromatischen Protonen entspricht.

2.5. Synthese und Charakterisierung der acylierten 3-Hydroxybenzaldehydcyanhydringlucoside

2.5.1. α- und ß-Penta-O-acetate

Die Glykosiddarstellung erfolgte durch Umsetzung des Cyanhydrins **32** mit der α-Acetobromglucose **28** im Molverhältnis 1:1 in absolutem Acetonitril unter Verwendung von äquimolaren Mengen an Quecksilbercyanid und Quecksilberbromid.



Dabei wurde das Quecksilbercyanid zur Bindung des entstehenden Halogenwasserstoffes eingesetzt, während die sofortige Zugabe des Bromids die Halogenose **28** durch Komplexbildung viel reaktionsfähiger macht. Deshalb mußte **28** zuletzt zur Lösung der anderen Komponenten zugesetzt werden, damit die sich rasch bildende Komplexverbindung sofort dem Alkohol als Reaktionspartner zur Verfügung steht[37].

Bei dieser Umsetzung muß also mit der Bildung von α- und ß-glykosidischen Derivaten gerechnet werden, wobei maximal vier Verbindungen möglich sind, jeweils zwei mit R- und S-Konfiguration in bezug auf das Chiralitätszentrum der Aromatenkomponente.

Nach 21stdg. Reaktionszeit bei Raumtemperatur und unter Feuchtigkeitsausschluß wurde das Reaktionsgemisch unter schonenden Bedingungen im Vakuum eingeengt.
Zur Entfernung der Quecksilbersalze, die bei der Aufarbeitung stören, löst man den Ansatz in Benzol und entfernt die unlöslichen Salze durch Filtration. Jedoch erwies sich diese Methode sowie die H_2S-Fällung der Quecksilbersalze aus einer ätherischen Lösung als zu aufwendig. Deshalb wurde das Verfahren von Helferich[37)] angewandt, bei dem die Salze aus der Chloroformlösung des Reaktionsgemisches durch mehrmaliges Schütteln mit 1N-KBr-Lösung entfernt werden.
Zur Isolierung von **36 R** war die säulenchromatographische Trennung des Ansatzes Voraussetzung, da im Dünnschichtchromatogramm ein hoher Anteil an nicht umgesetzter Alkoholkomponente **32** und seiner Ausgangsverbindung **33** nachgewiesen wurde, der eine Isolierung des Penta-O-acetyl-Holocalins (**36 R**)durch Kristallisation unmöglich machte.
Während das Aldehydderivat **33** durch Gelborangefärbung mit Dinitriphenylhydrazin-Reagenz identifiziert wurde,konnte das Cyanhydrin **32** mit dem"Feigl-Anger-Test"nachgewiesen werden.

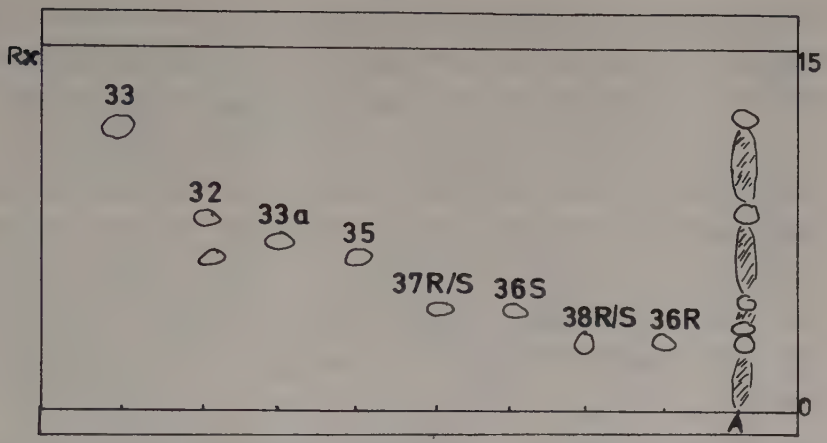


Abb. 6 : DC der Ausgangs-und Endprodukte (Fließmittel Benzol/Äther)

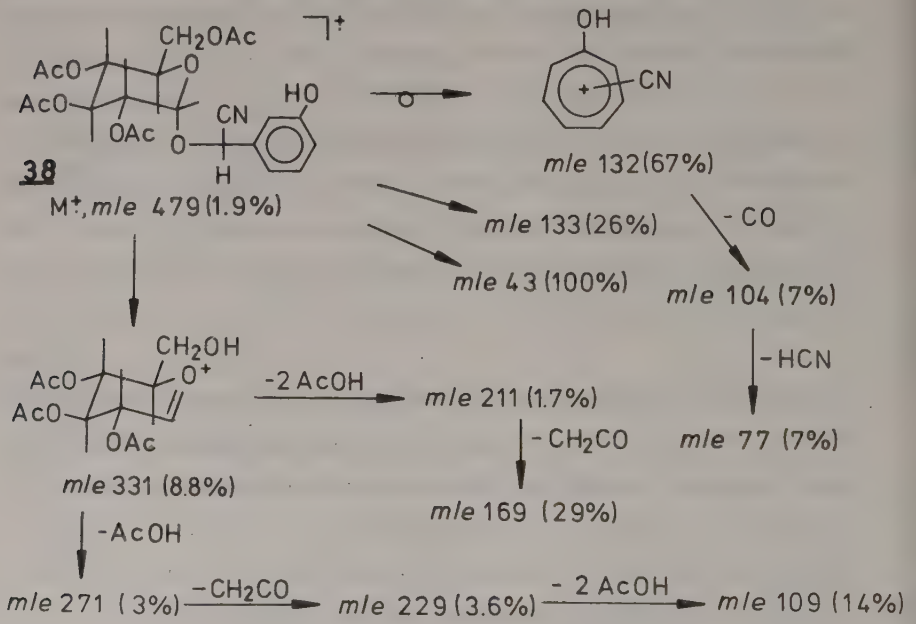
Wurde die DC-Platte (Abb. **6**) nach dem Besprühen mit Vanillin-Schwefelsäure noch kurz im Trockenschrank bei 110°C aufbewahrt, wurden diejenigen Substanzen, die keine Fluoreszenzlöschung im UV zeigen, zusätzlich sichtbar gemacht. Hierbei scheint es sich um Produkte zu handeln, die durch Nebenreaktionen der Zuckerkomponente **28** und seiner Zersetzungsprodukte aufgrund der langen Reaktionszeit und Reaktionsträgheit der Alkoholkomponente [35] entstehen können. Durch ihre Anwesenheit erschwerte sich die säulenchromatographische Isolierung der Glykoside erheblich, da deren Rf-Werte fast identisch waren.

Anfängliche Versuche, den Reaktionsansatz mit einem Chloroform-Methanol-Gemisch (97/3, ml/ml) auf einer Kieselgelsäule zu trennen, mißlangen, obwohl das Dünnschichtchromatogramm eine gute Trennung der Ausgangs- und Endverbindungen in diesem Fließmittel zeigte. Es wurden nur Mischfraktionen erhalten, da auf der Säule Zersetzung des nicht umgesetzten Cyanhydrins **32** eintrat.

Daher war es bei der präparativen Trennung des Ansatzes vorteilhafter,wenn die Verweildauer des Glykosides auf der Säule wesentlich länger war als die der nicht umgesetzten Ausgangsverbindungen,sodaß deren Abtrennung zuerst erfolgen konnte.Hier erwies sich nach unseren Untersuchungen das Gemisch Benzol-Äther (60/40,ml/ml) als sehr günstig.

Trotzdem konnte das acetylierte Holocalin (**36 R**) nach der ersten säulenchromatographischen Trennung noch nicht isoliert werden,da im größten Teil der glykosidhaltigen Fraktionen eine zweite Substanz **38** mit fast dem gleichen Rf-Wert (s.Abb.6) auftrat,die weder durch Kristallisation noch durch mehrmalige ,zeitaufwendige Säulentrennung zu entfernen war.

Aufgrund des aus einer Reinfraktion dieser "Verunreinigung"erhaltenen Massenspektrums,das bei m/e 479 das Molekülion registrierte,



postulierten wir für diese Verbindung die Struktur eines Tetraacetates **38**, das möglicherweise durch Entacetylierung aus einem Pentaacetat entstanden war.

Für das Fehlen der aromatischen Acetylgruppe spricht das bei der Fragmentierung im Massenspektrum auftretende Tetraacetylglykosylion m/e 331, welches durch Spaltung der glykosidischen Bindung, der wichtigsten Primärreaktion dieser Verbindungsklasse[48], entsteht. Ein weiterer Beweis ist das durch Tropyliumspaltung entstehende Fragmention m/e 132, wogegen beim Vorliegen der acetylierten Verbindung der Hauptpeak bei m/e 174 zu erwarten wäre.
Später gelang auch die Synthese dieses Tetraacetates **38** (s.S.45).

Diese Entacetylierungsreaktionen können nach Helferich langsam neben der Glykosylierung einherlaufen, da durch die Quecksilbersalze ein saures Milieu in der Lösung vorliegt. Diese Art von Nebenreaktion wird außerdem durch lange Reaktionszeiten begünstigt.

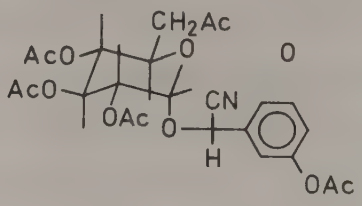
Als zweite Möglichkeit, die das Entstehen des Tetra-O-acetates **38** erklären würde, mußte die Reaktion der Halogenose **28** mit dem Cyanhydrin **35** angesehen werden, das in der von uns vorgelegten Alkoholkomponente **32** als Nebenprodukt mit in die Synthese einging. Da die Bildung von **35** aus der Acetylverbindung **32** durch Entacetylierung ausgeschlossen werden konnte, weil nur **32** nach Beendigung der Reaktion im Ansatz nachgewiesen wurde, mußte das Tetra-O-acetat **38** direkt aus **35** entstanden sein. Es finden also keine Entacetylierungsreaktionen statt. Dies wurde durch die Ergebnisse bei der Synthese von **38** bestätigt (s.S.45) .

---

48) K.Heyns, H.F.Grützmacher, H.Scharmann und D.Müller, Fortschr.Chem. Forsch. 5, 488 (1966)

Zur Trennung von **36 R** und **38** wurden die vereinten Mischfraktionen nach dem Einengen mit Acetanhydrid/Pyridin umgesetzt. Das nach 12stdg. Reaktionszeit bei Raumtemperatur erhaltene Gemisch konnte dann einwandfrei mit dem Elutionsmittel Benzol/Äther über Kieselgel getrennt werden.

Aus den ersten Eluatfraktionen wurde das bei der Reacetylierung aus dem Tetra-O-acetat **38** entstandene Glykosid **37** gewonnen, bei dem es sich nicht, wie vermutet, um das Zierinpenta-O-acetat **36 S** das Diastereomere des Holocalins **36 R** handelte, sondern um ein α-Glykosid.



37 R/S

Dies bewies sowohl der von uns ermittelte und für α-Glykoside charakteristische, positive optische Drehwert von $[\alpha]_D^{20} = +107,8^\circ$, als auch der negativ verlaufende Nachweis auf Cyanwasserstoff mit der "Sandwich-Methode" nach Entacetylierung von **37**.

Da **37** noch aus einer großen Anzahl von Fraktionen der ersten säulenchromatographischen Trennung isoliert wurde, ergab sich eine Gesamtausbeute für **37** von 22,4 %. Dabei war der Anteil von **37**, das direkt bei der Glykosylierung aus **32** und **28** entstand, erwartungsgemäß der höhere.

Nach den NMR-spektroskopischen Daten stellt dieses Penta-O-acetat **37** ein Diastereomerengemisch dar, dessen Trennung uns aber sowohl säulenchromatographisch als auch durch fraktionierte Kristallisation nicht gelang.

Das Holocalinpenta-O-acetat **36 R** konnte dann aus den darauffolgenden Fraktionen isoliert werden. Die Ausbeute des aus wenig Äther umkristallisierten Glykosids betrug 2,8%, konnte aber um 20% gesteigert werden, wenn die Reacetylierung sofort nach dem Entfernen der Quecksilbersalze durchgeführt wurde, da unter diesen Voraussetzungen nur eine säulenchromatographische Trennung des Ansatzes zur Isolierung von **36 R** notwendig war.

Weitere Untersuchungen ergaben, daß bei Verwendung der für die stereospezifische Bildung von ß-Glykosiden günstigen Reaktionsbedingungen, Nitromethan/Benzol und Quecksilbercyanid, erhebliche Ausbeuteverminderung (1,2% Gesamtausbeute an **36 R**) eintrat. Damit wurden unsere Ergebnisse bei der Prüfung auf Cyanogenese (s.S.26) bestätigt.

Während der Schmelzpunkt von 129,6°C des Syntheseproduktes dem des acetylierten Naturproduktes von Jensen [49] entspricht, weisen die beiden optischen Drehwerte, bei Messungen im gleichen Lösungsmittel, eine Differenz auf.

Abb. 7 : Tabelle der physikalischen Daten

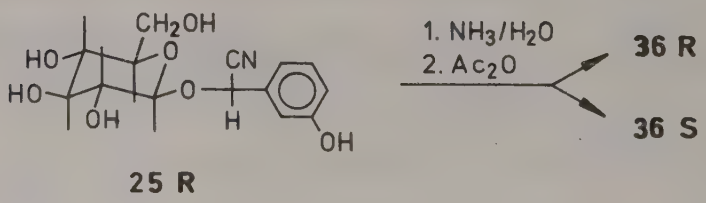
36 R	Schmp.	$[\alpha]_D^{20}$	Lösungsmittel
Syntheseprodukt	129,6°C	- 8,94°	$CHCl_3$
Jensen	129-130°C	- 12,00°	$CHCl_3$
Gmelin	99-102°C	- 16,9°	$CHCl_3$

49) S.R.Jensen und B.J.Nielsen, Acta Chem.Scand. 27, 2661 (1973)

Trotz der noch weit stärker abweichenden Daten, die Gmelin für sein Pentaacetat angibt, das aus dem Acetylierungsansatz der Mutterlauge des natürlichen Holocalins gewonnen wurde, handelt es sich bei dieser Verbindung ebenfalls um **36 R**, welches aber einen gewissen Anteil an isomerem Zierinacetat **36 S** enthält. Dies wird durch das in $CDCl_3$ aufgenommene NMR-Spektrum des authentischen Gmelin'schen Präparats bewiesen. (s.S.44)
Dies ist auch die einzig mögliche Erklärung für die erheblichen Unterschiede in den physikalischen Daten des Syntheseproduktes zu denen des peracetylierten Naturstoffs von Gmelin.

Bei dieser angewandten Synthesemethode entstehen also α- und ß-Glykoside. Außergewöhnlich ist jedoch die Tatsache, daß nur von **37** das Diastereomerengemisch aus R- und S-Form (bezogen auf das Aglykon) gefunden wurde, während vom ß-glykosidischen Isomerenpaar **36 R** / **36 S** nur das Holocalinacetat(**36 R**) isoliert wurde.

Dieses "ß-Diastereomere" **36 S** konnte aber von uns nach Isomerisierung des durch Entacetylierung dargestellten Holocalins (**25 R**) (s.S.51) gewonnen werden.



25 R

Zunächst wurde **25 R** in 10 ml Methanol gelöst und nach Zugabe

von 0,3 ml 25proz. wässriger Ammoniaklösung 24 Std. bei Raumtemperatur stehengelassen. Anschließendes Einengen des Ansatzes und darauffolgende Acetylierung mit Acetanhydrid/Pyridin erbrachten ein Gemisch von **36 R** und **36 S**, deren Trennung säulenchromatographisch mit Benzol/Äther gelang.

Das Syntheseprodukt **36 S** zeigt in allen Werten Übereinstimmung mit denen des peracetylierten Naturproduktes Zierin (**36 S**) von Jensen.

Zur Bestimmung der Konfiguration der Diastereomere **36 R** und **36 S** können die optischen Drehwerte der Acetate von cyanogenen ß-Glykosiden mit bekannter Konfiguration herangezogen werden, da ein auffälliger Zusammenhang zwischen der Größenordnung des Drehwertes und der Zugehörigkeit zur R- oder S-Reihe besteht[23].

Abb. 8 : Tabelle der optischen Drehwerte (**36 R/ S** ,Synthese)

R-Konfiguration	$[\alpha]_D^{20}$	$[\alpha]_D^{20}$	S-Konfiguration
Prunasinacetat	-17°	-55°	Sambunigrinacetat
Taxiphyllinacetat	-22°	-50°	Dhurrinacetat
Holocalinacetat (36)	$-8,94^\circ$	$-48,3^\circ$	Zierinacetat (36)

Aus dieser Tabelle (Abb. 8) geht hervor ,daß alle Acetylverbindungen mit niedrigerem optischen Drehwert der R-Reihe zuzuordnen sind,während diese mit höherem Drehwert der S-Reihe angehören.

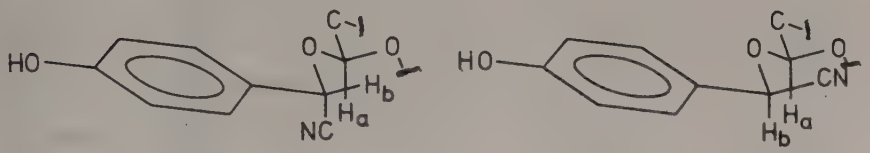
Die weitaus sicherere Aussage über die Konfiguration des Aglykons dieser ß-Glykoside des Benzaldehydcyanhydrins erfolgt aber durch die NMR-Spektroskopie.

Towers und Mitarbeiter[23)] konnten am Beispiel des Diastereomerenpaares Taxiphyllin (**24 R**) / Dhurrin (**24 S**) zeigen, daß bei den Acetylderivaten aufgrund der Lage des Methinprotons H_b am asymmetrischen C-Atoms des Aglykons und des anomeren Protons H_a am C-1 des Zuckers eine Zuordnung zur R- oder S-Reihe getroffen werden kann. Das Prunasin, dessen R-Konfiguration bewiesen ist[22)], wurde von den Autoren zum Vergleich herangezogen. Auch hier paßten sich die gefundenen Meßwerte in die Regel ein.

Danach gehören alle ß-glykosidischen Verbindungen dieses Typs, deren Singulett für H_b bei ca. δ= 5,50 ppm und deren H_a als Dublett bei ca. δ= 4,55 ppm auftreten, der R-Reihe an, während die Derivate, bei denen H_b und H_a eine Tieffeldverschiebung um ca. 0,15 ppm bzw. ca. 0,4o ppm erfahren, der S-Reihe zuzuordnen sind. In beiden Fällen liegt das axiale H_a durch Kopplung mit dem axialen Proton am C-2 des Zuckers als Dublett vor, das eine Kopplungskonstante J_{aa} = 7 Hz aufweist, die charakteristisch ist für alle ß-glykosidischen Verbindungen.

Die Erklärung dafür, kann nach Towers nur der unterschiedliche Einfluß des Aromaten und der Nitrilgruppe auf die Protonen H_a und H_b in der jeweils vorliegenden Konfiguration sein. Unter der Voraussetzung, daß es sich dabei um die stabilste der möglichen

Konformation des Glykosids handelt, wird im S-Isomer (Abb.9) das H_a durch den Anisotropieeffekt der Nitrilgruppe paramagnetisch zu tieferem Feld verschoben.



S-Konfiguration R-Konfiguration

(Abb. 9)

Desgleichen erfährt H_b unter dem Einfluß des Aromaten, der verstärkt ist, da H_b in der gleichen Ebene liegt wie der Aromat. Im Gegensatz dazu kann im R-Isomer (Abb.9) die Nitrilgruppe, jetzt in der Ebene des hydrierten Pyranringes und des Aromaten, H_a nicht mehr beeinflussen. Deswegen erscheint H_a ebenso wie H_b bei höherem Feld, da der Anisotropieeffekt nicht mehr den gleichen Einfluß hat.

Es sollte nun ein Vergleich der beiden synthetischen Diastereomeren **36 R** und **36 S** erfolgen, und die Konfiguration dieser beiden Derivate mit Hilfe dieser Regeln bestimmt werden. Anschließend daran wurde ein Vergleich mit dem Gmelin'schen Produkt vorgenommen.

Erwartungsgemäß werden im NMR-Spektrum von **36 R** (Abb.10) die vier Acetylgruppen des Zuckers als 12-Protonen-Resonanzsignal mit dem Schwerpunkt bei δ=2,07 ppm registriert, auf das bei δ=2,32ppm

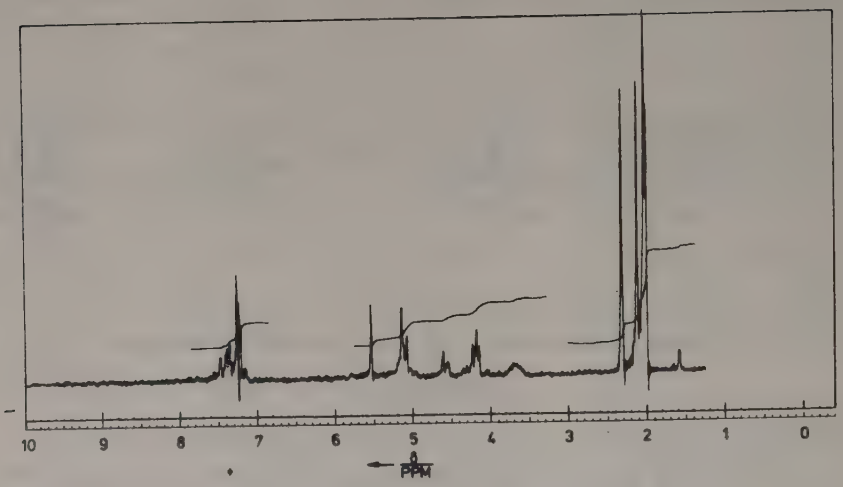


Abb. **10** : 100-MHz-Spektrum von **36 R** ($CDCl_3$)

das Singulett der aromatischen Acetylgruppe folgt.Den bei δ= 3,70 ppm sowie bei δ= 4,24 ppm zentrierten Multipletts sind in der gegebenen Reihenfolge dem Proton am C-5 und den Methylenprotonen des C-6 des Zuckers zuzuordnen,dessen weitere drei Protonen am C-2, C-3, und C-4 als Multiplett bei δ= 5,10 ppm erscheinen.Dem Signal mit der Intensität 4 im Bereich von δ= 7,10-7,55 ppm entsprechen die vier aromatischen Protonen.

Als für die Konfigurationsbestimmung wichtigen Protonen registieren wir ein Dublett bei δ= 4,60 ppm für H_a,sowie ein Singulett bei δ= 5,53 ppm für das Methinproton H_b im Aglykon.

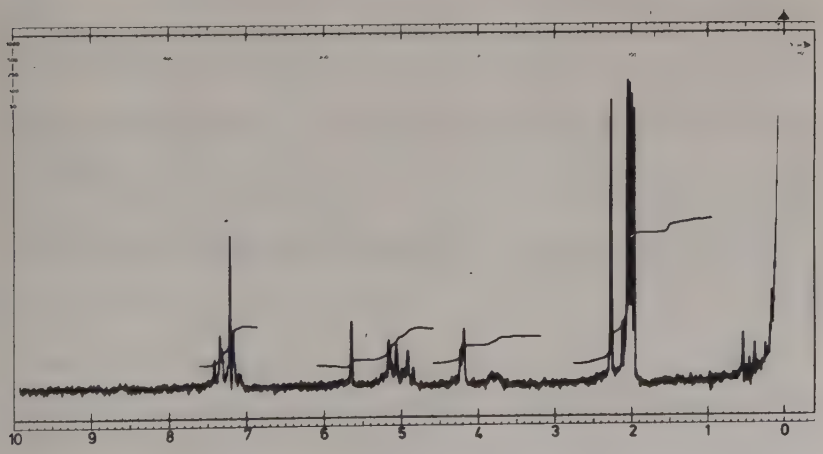
Damit stellt das Holocalin (**36 R**) ein R-Isomer dar,dementsprechend handelt es sich bei dem Zierin (**36 S**) um das dazugehörige S-Isomer.

Die S-Konfiguration von **36 S** wird durch die im NMR-Spektrum (Abb.**11**) auftretende paramagnetische Verschiebung der Protonen H_a und H_b zu tieferem Feld bestätigt.H_a liegt bei δ= 4,91 ppm ($\Delta\delta$ 0,31 ppm) während H_b bei δ =5,66 ppm erscheint (Δ 0,13 ppm).

Weitere signifikante Unterschiede zum R-Isomer sind das nach δ= 3,89 ppm um 0,20 ppm verschobene 5-H-Protonen Multiplett,sowie die im Verhältnis 1:1:1:1 aufgespaltenen vier Acetylgruppen der Zuckerkomponente im Bereich von δ = 1,95-2,10 ppm.Im R-Isomer liegt hier ein Verhältnis von 1:3 vor.

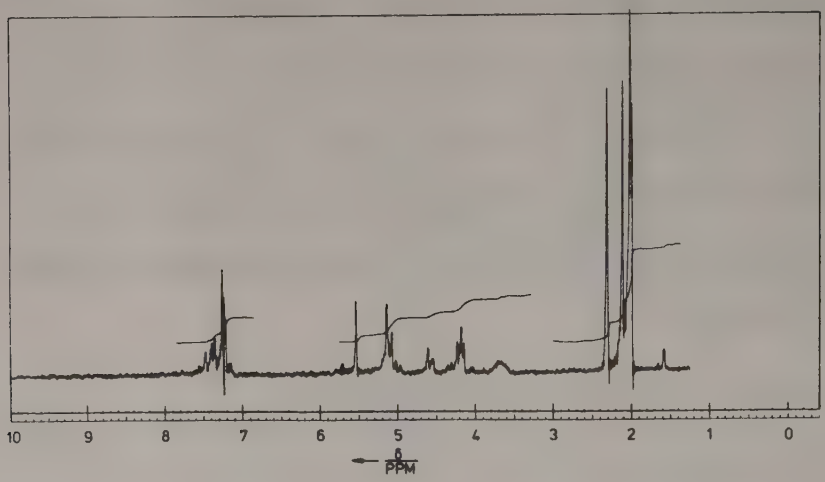
Diese Ergebnisse stehen im vollen Einklang mit denen von Jensen[49] und Nahrstedt[27].

Abb. **11** : 100-MHz-Spektrum von **36 S** ($CDCl_3$)



Im NMR-Spektrum des acetylierten, natürlichen Holocalins (**36R**) von Gmelin (Abb. 12) konnte nunmehr einwandfrei das Zierinacetat (**36S**) als zweite Substanz anhand der Protonen H_a und H_b nachgewiesen werden.

Abb. 12 : 100-MHz-Spektrum von 36 R Naturprodukt ($CDCl_3$)

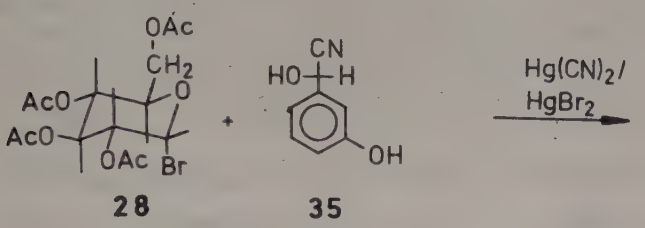


So finden wir ein schwaches Singulett für H_b (S-Isomer) bei δ = 5,72 ppm sowie für H_a (S-Isomer) ein bei ca. δ = 5,00 ppm zentriertes Dublett.

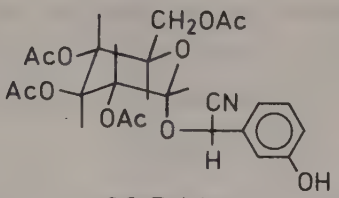
Im Gegensatz dazu konnte im Syntheseprodukt 36 R das Isomer 36 S nicht nachgewiesen werden.

2.5.2. Darstellung des 2-(2,3,4,6-Tetra-O-acetyl- α-D-gluco-pyranosyloxy)-2-(3-hydroxyphenyl)-acetonitrils

Zum Beweis der von uns postulierten Struktur eines Tetra-O-acetates **38**, planten wir folgende Synthese.



28 **35**



38 R / S

Unter diesen Bedingungen sollte eine Glykosylierung der phenolischen Gruppe nicht erfolgen, da Phenolglykoside nur im alkalischen Milieu gebildet werden[50]. Da aufgrund der einheitlichen Alkoholkomponente **35** mit weniger Nebenreaktionen zu rechnen war und damit auch eine wesentlich leichtere säulenchromatographische Trennung erwartet werden konnte, schien dieser Syntheseweg auch für die Holocalindarstellung interessant.

Aus dem unter gleichen Reaktionbedingungen, wie bei der Darstellung von **36**, **37** erhaltenen Ansatz, wurde nur eine Verbindung isoliert, die den gleichen Rf-Wert hatte wie **38**, das als Nebenprodukt bei der

---

50) R. Mauthner, J. prakt. Chem. 83, 556 (1911)

Synthese von 36/37 ebenfalls entstand.Auffällig war,daß 35 dünnschichtchromatographisch nicht mehr nachzuweisen war.

Die auf unabhängigem Wege voneinander erhaltenen Acetate 38 waren identisch.Dies konnte nicht nur durch die deckungsgleichen IR-Spektren sondern auch durch die NMR-Spektren der nach der Reacetylierung von 38 erhaltenen Pentaacetate belegt werden.Diese stimmten wiederum mit dem des α-Pentaacetates 37 überein,womit gleichzeitig die Bildung von ß-Glykosiden auszuschließen war.

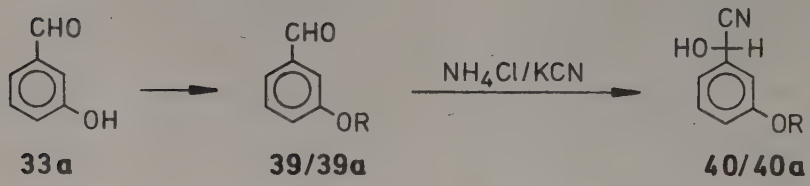
In allen Fällen handelte es sich bei den isolierten Pentaacetaten um Diastereomerengemische,deren prozentualer Anteil an R-und S-Isomeren nach den NMR-Spektren zwischen 40 und 60% lag.Bedingt dadurch traten Intensitätsunterschiede bei den Resonanzsignalen der Acetylgruppen als auch denen der Protonen im Bereich zwischen δ= 3,80-5,80 ppm auf.

Nicht nur diese Ergebnisse ,sondern auch der Drehwert von $[\alpha]_D^{20}$ = + 120,3° sprechen für das Vorliegen eines α-Glykosides,das ein Diastereomerengemisch darstellt,wie aus dem NMR-Spektrum von 38 hervorgeht.

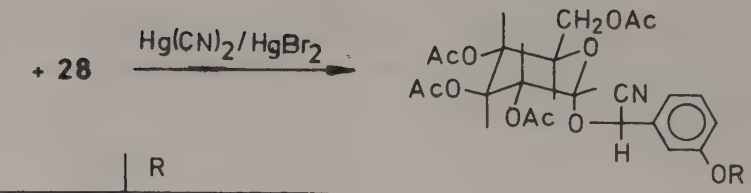
Signifikant und nur mit der Struktur des Tetraacetates 38 vereinbar sind die bei δ= 5,83 ppm sowie δ= 6,05 ppm auftretenden zwei Singuletts mit einer Gesamtintensität von 1,die dem phenolischen OH-Proton zuzuordnen sind,und die nach D_2O Zugabe nicht mehr in dem in $CDCl_3$ aufgenommenen NMR-Spektrum registriert werden.Während das bei Vorliegen der aromatischen Acetylgruppe charakteristische 3-Protonen-Singulett bei δ= 2,31 ppm fehlt,sind die beiden 6-Pro-

tonen -Singulettsbei δ=2,11 ppm und δ=2,06 ppm je zwei Acetylgruppen des Zuckeranteils zuzurechnen, wobei letzteres Resonanzsignal mehrfach aufgespalten ist, was als Hinweis auf das Vorliegen eines Isomerengemisches zu werten ist. Auf das Multiplett im Bereich von δ=3,95 ppm - 4,35 ppm für die drei Protonen am C-5 und C-6 des Zuckers folgt ein komplexes Multiplett zwischen δ=4,70 - 5,70 ppm für 2-H,3-H,4-H sowie H_a und H_b. Auch hier ist eine Zuordnung der Protonen wegen des vorliegenden Isomerengemisches nicht möglich. Nur das Proton am C-2 des Zuckers kann eindeutig als Doppeldublett um δ=4,85 ppm bestimmt werden, während alle anderen Protonen sich überlagern.

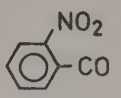
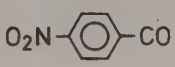
2.5.3. Darstellung des 2-(2,3,4,6-Tetra-O-α-D-glucopyranosyl-oxy)-2-[3-(2'-nitrobenzoyloxy)-phenyl]-acetonitrils



33a **39/39a** **40/40a**



41 R/S

	R
39 40 41	
39a 40a	

Da bei der Cyanhydrin-Synthese eine parallel verlaufende Hydrolyse des Phenolacetates beobachtet worden war, sollte deshalb anstelle des Essigsäureesters eine Aracylgruppe zum Schutz der phenolischen Hydroxylfunktion von 33a eingeführt werden, weil in diesem Falle eine kristalline einheitliche Alkoholkomponente **40** zu erwarten war.

Hierfür boten sich die Benzoesäure sowie ihr o-und p-Nitroderivat an. Die Entscheidung fiel zugunsten der Nitroverbindungen, da deren

Esterverseifung bei Basenkatalyse durch den -M-Substituenten wesentlich begünstigt wird[51]. Das ist vor allem wichtig für die Überführung des acylierten Derivates **41** in das freie Glykosid.

Die Umsetzung des nach Schotten-Baumann dargestellten Aldehyds **39** zum Cyanhydrin **40** wurde nach der Variante B (s.S.28) durchgeführt, da **39** überhaupt kein Hydrogensulfit-Addukt bildet (Variante A). Jedoch konnten erst durch Veränderung der Reaktionsbedingungen befriedigende Ausbeuten erhalten werden, Außer der Verwendung des Benzol/Äther-Gemisches mußte **39** zweimal je zwei Stunden mit Kaliumcyanid/ Ammoniumchlorid umgesetzt werden, da sonst überwiegend nur **39** isoliert wurde.
Da auch unter diesen modifizierten Bedingungen aus **39a** nur in geringer Ausbeute das Cyanhydrin **40a** entstand, wurde auf die weitere Verwendung von **40a** verzichtet.

Die Glykosylierung des Alkohols **40** mit der Halogenose **28** erfolgte nach der üblichen Methode in absolutem Acetonitril und unter Verwendung des Quecksilbersalzgemisches als Katalysator.

Nach Entfernen der Katalysatoren konnte in der dünnschichtchromatographischen Analyse außer der Ausgangsverbindungen **39** und **40** eine weitere Substanz mit Fluoreszenzlöschung nachgewiesen werden, die sich nach der säulenchromatographischen Trennung als das gesuchte Glykosid **41** erwies. Diese Verbindung lag wieder als Diastereomerengemisch vor und dessen positiver optischer Drehwert ein eindeutiger Hinweis für das Vorliegen von α-glykosidischen Verbindungen ist.

---

51) H.R.Christen,Grundlagen der organischen Chemie,1.Aufl.,S.488, Verlag Sauerländer Aarau Diesterweg Salle,Frankfurt/Main 1970

Auch bei dieser Synthese konnte die Bildung von ß-Glykosiden nicht nachgewiesen werden.

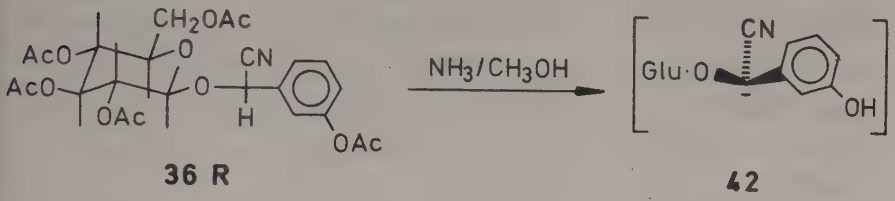
Erstmalig gelang es aus dem Isomeren-Gemisch durch Kristallisation aus Äther nach 14-tägigem Stehen bei -5°C eine kristalline Verbindung zu isolieren, die, wie aus dem NMR-Spektrum ersichtlich, ein reines Isomer von **41** darstellt. Eine endgültige Aussage über die Konfiguration im Aglykon dieses Isomers konnte zunächst nicht gemacht werden, da die Isolierung des anderen Isomers durch Umkristallisation aus Methanol/Wasser nicht gelang. Vergleiche mit den ß-glykosidischen Derivaten können aber nicht vorgenommen werden, da durch den Bindungswechsel sicher andere Konformationen begünstigt sind. Aber auch das, nach dem Einengen der Mutterlauge erhaltene, dünnschichtchromatographisch reine Isomerenpaar **41 R/S** konnte NMR-spektroskopisch eindeutig als α-Glykosid-Gemisch identifiziert werden.

Erst nachdem uns die Trennung eines α-glykosidischen Diastereomerengemisches gelungen war, konnten wir die Konfiguration des reinen Isomers von **41** durch vergleichende NMR-Spektroskopie bestimmen. Nach diesen Untersuchungen gehört das α-glykosidische Isomer **41** der S-Reihe an (s.S. 64).

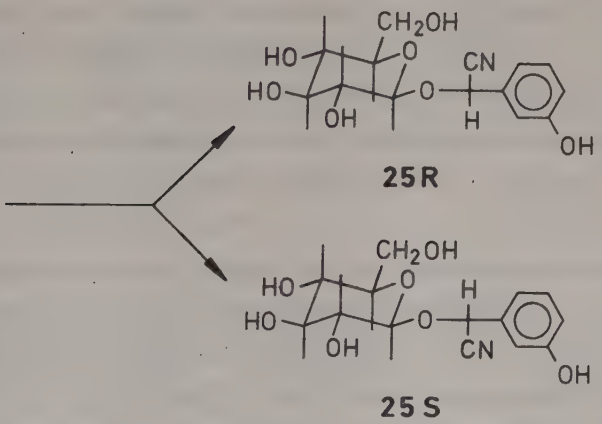
2.6. Darstellung der α- und ß-(3-Hydroxybenzaldehydcyanhydrin)-glucoside

2.6.1. Die ß-glykosidischen Verbindungen Holocalin und Zierin.

Der entscheidende Schritt zur Darstellung des freien Glykosids ist die Hydrolyse der betreffenden Acylverbindung.



36 R **42**



25R

25S

Hierbei muß grundsätzlich die Esterverseifung im alkalischen Milieu vorgenommen werden, da wegen der Säurelabilität der glykosidischen Bindung eine saure Hydrolyse nicht durchführbar ist. Die Umsetzung kann entweder mit Natriummethylat in absolutem Methanol[52] oder in einer mit Ammoniak gesättigten Methanollösung erfolgen[22].

---

52) R.C.Clapp, F.H.Bisselt, R.A.Coburn und L.Long jr., Phytochemistry 5, 1323 (1966)

Letztere Methode wurde von uns zur Holocalindarstellung vorgezogen, da hier keine Phenolatbildung möglich und somit die Isolierung von Holocalin (**25 R**) einfacher war.

Bei dieser Reaktion muß unter der Baseneinwirkung mit einem Konfigurationswechsel im Chiralitätszentrum des Benzaldehydcyanhydrins gerechnet werden. Eine solche Isomerisierung beobachteten zuerst Cadwell und Courtauld beim Prunasin[53]. Da nach Nahrstedt[54] die Racematbildung über das Carbanion **42** erfolgt, ist die Voraussetzung dafür ein Wasserstoff am asymmetrischen C-Atom. Dies wird durch die Tatsache bestätigt, daß beim Lotaustralin und Gynocardin wegen des fehlenden Wasserstoffs am α-C-Atom keine Racemisierung beoachtet wurde[19].

Da höhere Temperaturen eine mögliche Racemisierung beschleunigen, erfolgte die Esterhydrolyse immer unter Eiskühlung. Trotzdem führte die Entacetylierung des reinen R-Isomers **36 R** zur Bildung eines Gemisches von **25 R** und **25 S**, das aber im Dünnschichtchromatogramm nicht nachgewiesen werden konnte, da beide Derivate den gleichen Rf-Wert aufwiesen. Aus den mit der "Sandwich-Methode" geprüften, glykosidhaltigen Fraktionen der säulenchromatographischen Trennung mit Essigester/Methanol wurde nach dem Einengen das Holocalin (**25 R**) durch Kristallisation aus Essigester/Chloroform gewonnen, während das isomere Zierin (**25 S**), dessen Bildung durch das im NMR-Spektrum (in D_2O aufgenommen) der Mutterlauge auftretende Singulett für das benzylische Proton H_b bei δ= 5,98 ppm nachgewiesen wurde, nicht isoliert werden konnte.

---

53) R.J.Cadwell und S.L.Courtauld, J.Amer.Chem.Soc. 91, 671(1907)
54) A.Nahrstedt,Arch.Pharm.(Weinheim),308,903 (1975)

Eine NMR-spektroskopische Charakterisierung des freien Glykosids in D_2O (Innerer Standard TTP) ist unbefriedigend, weil nur das Methinproton H_b eindeutig zu lokalisieren ist, während das anomere H_a unter dem breiten D_2O-Signal bei δ=4,75 ppm liegt.

Um jedoch eine eindeutige Aussage über die Konfiguration der freien Glykoside machen zu können, führten wir Messungen mit dem Prunasin (**23 R**), Sambunigrin (**23 S**) und dem Holocalin (**25 R**) in DMSO d_6 und anschließendem Austausch mit D_2O durch, analog der Arbeit von Casu und Mitarbeiter[55], welche die Konformation der Glucose und verschiedener Zuckerderivate in DMSO d_6 untersuchten.

Hierbei konnten wir eine ähnliche Beziehung für die Protonen H_a und H_b zur R- oder S-Reihe feststellen, wie sie Towers bei den acetylierten Derivaten gezeigt hatte.
Die Daten für Zierin **25 S** entnahmen wir dem NMR-Spektrum des bei der Synthese erhaltenen reinen Isomerengemisches (Mutterlauge), in dem **25 S** zu etwa 60 proz. vorlag.

Abb. 13:

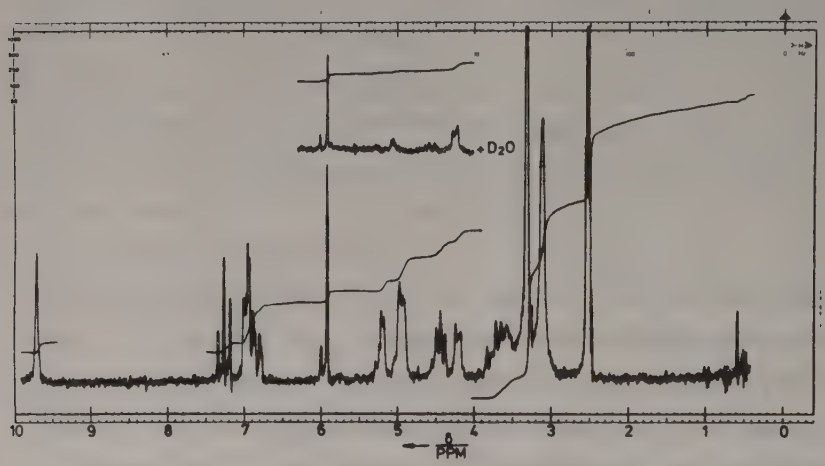
R-Konfiguration	H_a	H_b	S-Konfiguration	H_a	H_b
Prunasin (23)	4,20ppm	6,01ppm	Sambunigrin (23)	4,55ppm	6,12ppm
Holocalin(25)	4,25ppm	5,92ppm	Zierin (25)	4,52ppm	6,00ppm

Damit besteht also die Möglichkeit, die Konfiguration der ß-glyko-

55) B.Casu,M.Reggiani,G.G.Gallo und A.Vigevani,Tetrahedron, 22,3061 (1966)

sidischen Benzaldehydcyanhydringlykoside sofort nach der Isolierung aus dem Pflanzenmaterial zu bestimmen, ohne erst Derivate wie Acetate oder Trimethylsilyläther herstellen zu müssen.

Abb. **14** : 100-MHz-Spektrum von **25 R** (DMSO d_6)



So zeigt das in DMSO d_6 aufgenommene NMR-Spektrum von **25 R** im Bereich von δ= 3,00 ppm - 3,90 ppm, ein komplexes Multiplett, dem die Protonen 2-H, 3-H, 4-H, 5-H und 6-H_2 entsprechend, deren Zuordnung aber durch das im gleichen Bereich auftretende D_2O-Signal erschwert wird. Darauf folgt bei δ= 4,20 ppm ein unscharfes Dublett mit der für diaxiale Kopplungen typischen Konstanten J_{aa}=7Hz für das H_a-Proton. Das Triplett bei δ= 4,42 ppm und die Dubletts bei δ= 4,95 ppm und δ= 5,12 ppm entsprechen in der gegebenen Reihenfolge den Resonanzsignalen der OH-Protonen des primären Alkohols am C-6, denen der beiden sekundären Alkohole am C-4 und C-3 sowie

dem des an C-2, die nach D_2O-Zugabe nicht mehr registriert werden, genauso wie das bei δ= 9,70 ppm als Singulett erscheinende phenolische Proton. Als weiteres Singulett tritt das H_b bei δ = 5,92 ppm auf. Das benachbarte, schwache Signal bei δ = 6,00 ppm muß dem H_b des S-Isomers **25 S** zugeordnet werden. Dafür spricht auch das angedeutete Dublett bei δ= 4,54 ppm für H_a(S). Im aromatischen Bereich folgt dem um δ= 6,92 ppm zentrierten Multiplett der Protonen des C-7, C-8 und C-10 das deutlich nach tieferem Feld verschobene 9-H Proton bei δ= 7,22 ppm als Triplett, das durch eine ortho-Kopplung mit 8-H und 10-H entsteht.

Im Vergleich dazu zeigt das NMR-Spektrum des S-Isomers Sambunigrin **23 S** (Abb.15) eine deutliche Tieffeldverschiebung des H_a-Dubletts, das jetzt unter dem Resonanzsignal des OH-Protons am C-6 bei δ = 4,52 ppm liegt.

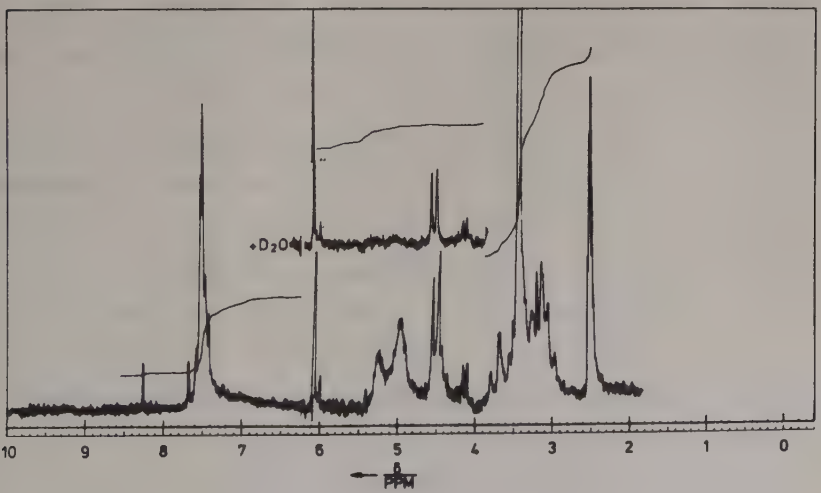
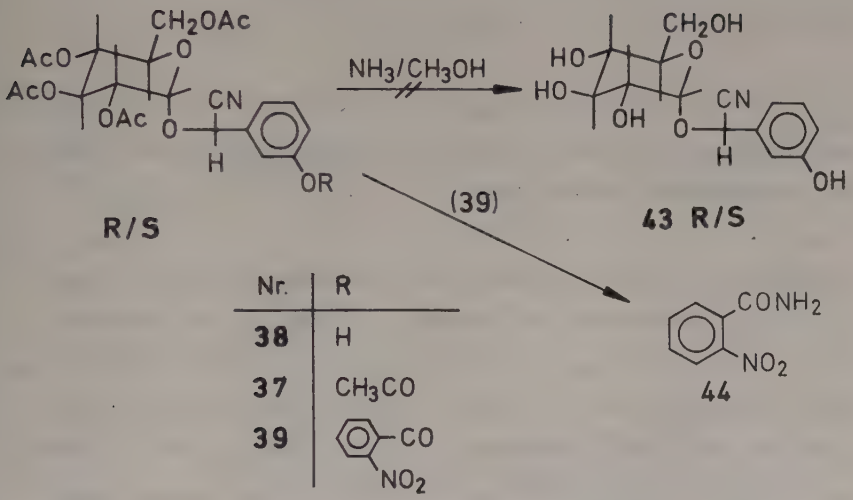


Abb. **15** : 100-MHz-Spektrum von **23 S** (DMSO d_6)

Nach D_2O-Zugabe tritt es als scharfes Dublett auf (J_{aa} = 7 Hz). Das Singulett für H_b liegt bei δ= 6,10 ppm. Auch hier sind die Signale bei δ= 6,00 ppm und δ= 4,15 ppm den Protonen H_a und H_b des R-Isomers Prunasin (**23 R**) zuzuordnen.

Im NMR-Spektrun des Naturproduktes **25 R** von Gmelin kann ebenfalls das Zierin **25 S** als S-Isomer nachgewiesen werden. Der Anteil entspricht dabei ungefähr demjenigen im Syntheseprodukt.
Damit ist gleichzeitig die Frage, ob beide Diastereomere in Holocalyx balansae Mich. vorkommen, beantwortet, allerdings unter der Voraussetzung, daß während der Isolierung keine Isomerisierung stattgefunden hat.

2.6.2. Entacetylierung der α-Glucoside



Nr.	R
38	H
37	CH_3CO
39	

Die Entacetylierungsreaktion der α-Derivate **38** und **37** sollte ähnlich unproblematisch verlaufen wie die der ß-Derivate. Dies traf jedoch nicht zu. Dünnschichtchromatographisch wurden aus dem nach 3stdg. Reaktionszeit aufgearbeiteten Ansatz mehrere Substanzen nachgewiesen, von denen bei der anschließenden Säulentrennung nur eine dünnschichtchromatographisch einheitliche Verbindung in geringer Ausbeute isoliert werden konnte. Da das IR-Spektrum aber neben der aromatischen C=C-Valenzschwingung bei 1600 cm^{-1} noch eine Carbonylbande bei 1720 cm^{-1} zeigte, wurde erneut entacetyliert, aber auch diesmal ohne Erfolg.

Offensichtlich trat ebenso Zersetzung wie bei Verwendung von Natriumethylat auf. Dies ist vermutlich auf die Alkalilabilität der α-glykosidischen Bindung zurückzuführen und nicht auf den beim

Dhurrin beobachteten Abbau über das Phenolat [56]. Dafür spricht die mit Erfolg durchgeführte Entacetylierung des ß-glykosidischen Holocalin-Penta-O-acetats (**36 R**).

Bei der Hydrolyse von **41** erhielten wir zusätzlich noch das o-Nitrobenzoesäureamid , dessen Struktur durch Schmelzpunkt und IR-Spektrum eindeutig abgesichert ist.

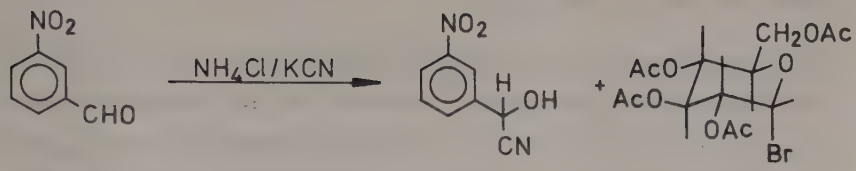
Zum Beweis der von uns aufgestellten Behauptung über die Alkalilabilität der α-glykosidischen Bindung, planten wir die Synthese eines α-Derivates, deren m-ständiger Substituent am Aromaten gegen Alkali inert ist, womit ein Abbau des Glykosids über das Phenolat auszuschließen war. Sollte dennoch bei der Entacetylierung dieses neuen Glykosids die Spaltung der α-glykosidischen Bindung einherlaufen, konnte dies nur auf ihre Alkalilabilität zurückzuführen sein.
Hier bot sich die Nitro-Gruppe auch noch aus folgenden Gründen an:

a) Unproblematische Darstellung der Ausgangsverbindung, dem Cyanhydrin.
b) Leichte, dünnschichtchromatographische Identifizierung der acylierten Produkte durch deren gute Sichtbarkeit im UV-Licht.
c) Bessere Kristallisationseigenschaften der O-Acetylglykoside.

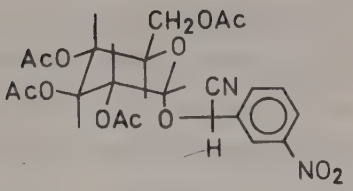
---

56) C.H.Mao und L.Anderson,J.Org.Chem.30 ,603(1965)

2.7.1. Darstellung des 2-(2,3,4,6-Tetra-O-acetyl-α-D-gluco-pyranosyloxy)-2-(3-nitrophenyl)-acetonitrils

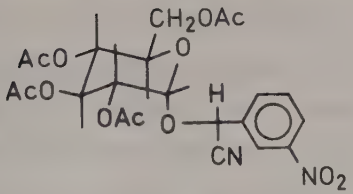


45 46 28



47b R

$Hg(CN)_2/HgBr_2$



47a S

Das nach der Variante B aus **45** dargestellte Cyanhydrin **46** wurde unter den bekannten Reaktionsbedingungen mit der Halogenose **28** zur Tetraacetylverbindung **47** umgesetzt, deren dünnschichtchromatographischer Nachweis in dem nach der üblichen Methode aufgearbeiteten Reaktionsansatz einfach war. Während **47** die gleiche

Fluoreszenzlöschung im UV-Licht zeigte wie die Ausgangsverbindung **45** und **46**, war eine Differenzierung mit Vanillin/Schwefelsäure möglich, da **47**, wie alle Zuckerderivate, nach dem Erhitzen unter Verkohlung reagierte.

Nach der ersten säulenchromatographischen Trennung erhielten wir ein einheitliches Rohprodukt, das sich aber bei anschließender Dünnschichtchromatografie nach dreimaligem Entwickeln im Fließmittel Benzol-Äther (6/4v/v) als ein Isomerengemisch erwies. Obwohl die Rf-Wert-Unterschiede nur sehr gering waren, führten wir die Trennung der Isomere über die Kieselgelsäule mit dem Benzol-Äther-Gemisch durch.
Andere Elutionsmittel wie Benzol-Chloroform, Äther-Pentan, Chloroform-Aceton in den verschiedensten Mischungsverhältnissen ergaben keine besseren Trennungen. Die Isolierung der Diastereomere gelang jedoch auch nach mehrmaliger Säulenchromatografie nur in kleinen Mengen, da bei jeder Trennung nur maximal 6 Reinfraktionen von **47a** und **47b** in dieser Reihenfolge von der Säule erhalten wurden. Als Hauptkomponente ist daher das Gemisch der beiden Verbindungen anzusehen. Sowohl der positive Drehwert als auch die negativ verlaufende Prüfung auf ß-Glykoside nach der Entacetylierung mit der "Sandwich-Methode" beweisen, daß nur α-Glykoside entstanden sind.

Wenn hier eine analoge Beziehung zwischen den optischen Drehwerten und der Konfiguration besteht wie bei den ß-glykosidischen Derivaten, dann muß **47a** mit einem Drehwert von $[\alpha]_D^{20} = +120{,}9^\circ$ der S-Reihe angehören ,während **47b** mit $[\alpha]_D^{20} = +67{,}1^\circ$ der R-Reihe zuzuordnen ist.

Ein Vergleich der NMR-Daten der ß-Glykoside mit denen der α-Verbindungen zur Konfigurationsbestimmung kann nicht erfolgen, da sicherlich unterschiedliche Konformationen in beiden Typen bevorzugt vorliegen.

Aus Modellbetrachtungen von **47a** und **47b** geht hervor, daß im Konformerengleichgewicht eine Konformation mit parallel, stufenartig verschobenen Ringen die geringste sterische Hinderung aufweist und deshalb mit großer Wahrscheinlichkeit begünstigt ist. In diesen bevorzugten Konformationen ist der Einfluß des Aromaten auf das H_b der gleiche wie bei den ß-Glykosiden, während aber das α-glykosidische H_a in der äquatorialen Lage in diesen Konformationen der Diastereomere durch den Anisotropieeffekt der Nitrilgruppe nicht beeinflußt werden kann.
Danach könnte eine NMR-spektroskopische Konfigurationsbestimmung der α-glykosidischen, acylierten Derivate nur über das Methinproton H_b erfolgen.

Abb. **16**:

Substanz	H_b	Konfiguration	H_a
47a	5,60 ppm	S-Konfiguration	5,45 ppm
47b	5,45 ppm	R-Konfiguration	5,35 ppm
41 S	5,53 ppm	S-Konfiguration	5,40 ppm
41 S/R	5,54 ppm	S-Konfiguration	5,40 ppm
	5,38 ppm	R-Konfiguration	5,30 ppm

Die chemische Verschiebungsdifferenz des H_b um ca.0,15 ppm entspricht in etwa den Werten zur Unterscheidung der R- und S-Isomeren bei den ß-glykosidischen Derivaten.

Der Wert des H_b der R-Reihe von **41** konnte eindeutig dem NMR-Spektrum des Gemisches von **41 R/S** entnommen werden, da der Anteil an R-konfiguriertem Derivat überwog.

Die Struktur des α-glykosidischen 3-Nitrobenzaldehydcyanhydrin-glykosid-acetates **47 a** wird durch das NMR-Spektrum (Abb. 17) eindeutig abgesichert.

Nur mit dem Vorliegen einer α-glykosidischen Bindung vereinbar sind die Resonanzsignale des H_a am C-1 und des Protons am C-2 des Zuckers in der gegebenen Reihenfolge bei δ= 5,43 ppm und um δ = 5,00 ppm. Erwartungsgemäß weist das Dublett von H_a, das wegen seiner äquatorialen Lage um ca. 0,5 ppm zu tieferem Feld verschoben ist, durch eine axial-äquatoriale Kopplung mit 2-H eine Kopplungskonstante von 4,4 Hz auf, die im Doppeldublett des 2-H neben einer Kopplungskonstanten von 9 Hz für eine diaxiale Kopplung des Protons am C-2 und C-3 des Zuckers wieder auftritt. Auf das Triplett um δ= 5,05 ppm für das Proton am C-4 folgt um δ= 5,40 ppm das Triplett für das Proton am C-3 des Zuckers. Das Singulett bei δ = 5,60 ppm mit der Intensität 1 entspricht dem H_b, während dem Multiplett um δ= 7,80 ppm die zur Nitro-Gruppe meta- und paraständigen beiden Protonen zuzuordnen sind, auf das bei δ= 8,33 ppm das 2-Protonen-Multiplett für die zur Nitro-Gruppe orthoständigen Protonen folgt. Das Multiplett für die beiden Protonen des C-6 um δ = 4,24 ppm setzt sich deutlich vom Signal um δ= 3,95 ppm des 5-H ab. Auch die 12 Protonen der vier Acetylgruppen werden in zwei 6-Protonen-Singuletts aufgespalten, die sich voneinander abheben.

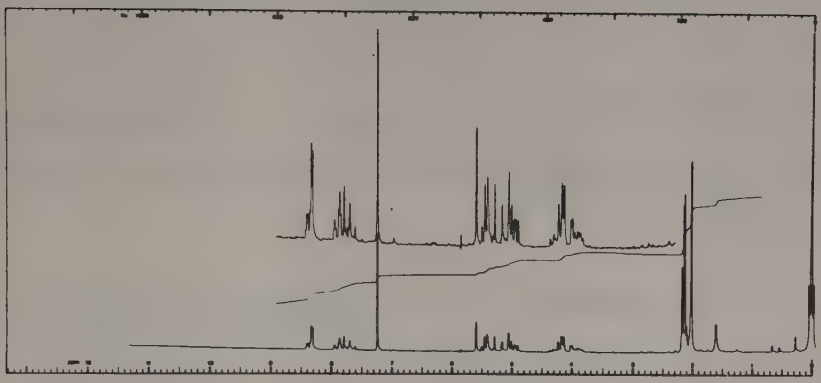


Abb. **17**: 90-MHz-Spektrum von **47a** ($CDCl_3$, 921 Durchläufe)

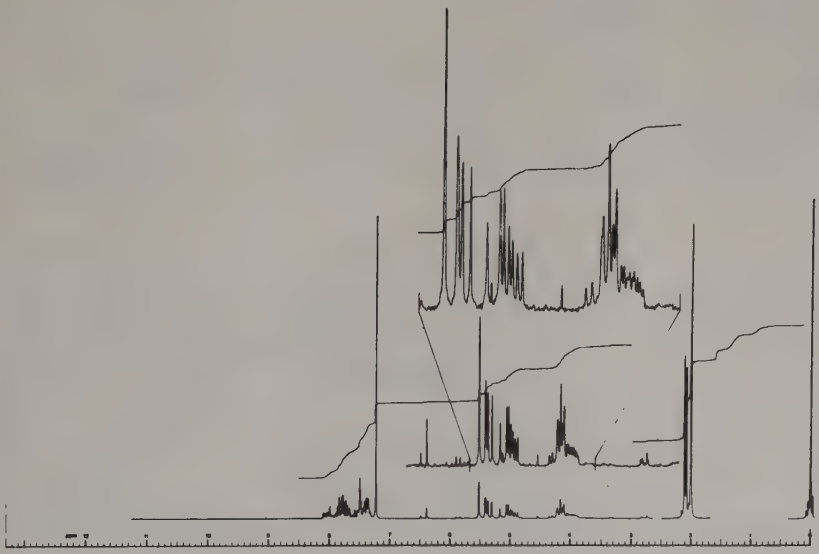
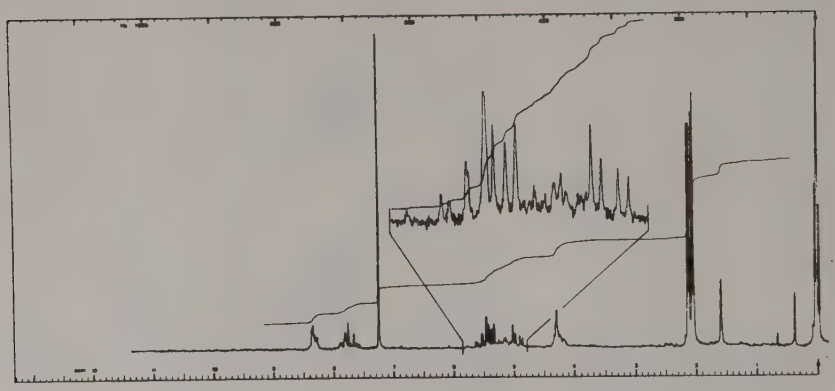


Abb. **18** : 90-MHz-Spektrum von **41 S** ($CDCl_3$, 945 Durchläufe)

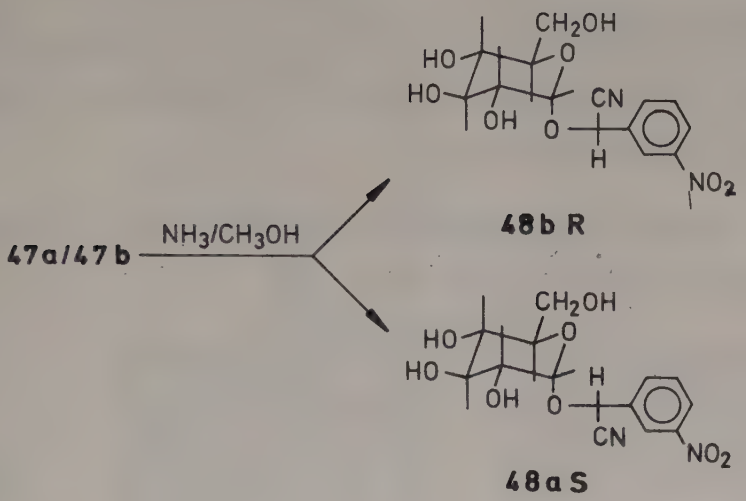
Wie aus dem NMR-Sepktrum von **41 S** (Abb. **18**) ersichtlich ist, zeigt dieses 2-(2,3,4,6-Tetra-O-acetyl-α-D-glucopyranosyloxy)-2-[3-(2'-nitrobenzoyloxy)-phenyl] - acetonitril das gleiche Aufspaltungsmuster der Protonen im Zuckeranteil wie **47 a**. Deshalb haben wir **41 S** der S-Reihe zugeordnet, entsprechend der Konfiguration von **47a**.

Die entscheidenden Unterschiede im NMR-Spektrum (Abb. **19**) des R-Isomers **47 b** zum S-Isomer **47 a** sind das um δ=4,26 ppm zentrierte 3-Protonen-Multiplett für C-6 und C-5, das deutlich nach tieferem Feld verschobene Triplett des 4-H bei δ=5,14 ppm, das nicht mehr unter dem Doppeldublett des Protons am C-2 liegt, sowie das um 0,15 ppm nach hohem Feld verschobene Singulett für H_b bei δ=5,45 ppm .

Abb.**19** : 90-MHz-Spektrum von **47b** ($CDCl_3$, 479 Durchläufe)



2.7.2. Darstellung der freien m-Nitrobenzaldehydcyanhydrin-glykoside



Die Entacetylierung der reinen acetylierten Isomere **47a** und **47b** führte unter den gleichen Reaktionsbedingungen zu unterschiedlichen Ergebnissen.

Während aus dem S-Isomer **47a** nach 2,5stdg. Reaktionszeit **48a** in fast reiner Form entstand, wurde bei der Umsetzung von **47b** (R-Isomer) ein Gemisch von **48a**, **48b** im Mengenverhältnis von etwa 50 : 50 isoliert, wie aus dem NMR-Spektrum ersichtlich war.
Die spektralen Daten dieses Gemisches entsprachen den Werten der Verbindung, die bei der Entacetylierung des Gemisches **47a**, **47b** erhalten wurden.

In allen Fällen wurde eine zweite Substanz in geringer Ausbeute isoliert, deren IR-Spektrum neben einer Esterfunktion bei 1730 cm^{-1} noch eine zweite Carbonylfunktion bei 1650 cm^{-1} aufwies.

Obwohl die Entacetylierung dieses Glykosides unter schonenden Bedingungen durchgeführt wurde, waren die Ausbeuten von ca.40% verhältnismäßig niedrig. Eine nebenherlaufende Spaltung der glykosidischen Bindung aufgrund einer Alkalilabilität ist nicht auszuschließen. Wie weitere Untersuchungen ergaben, trat bei Erhöhung der Alkalikonzentration sowie der Reaktionsdauer erhebliche Ausbeuteverminderung ein.

Aus den NMR-Spektren von **48a** und **48b** ergeben sich für die Protonen H_a und H_b folgende Werte:

Substanz	H_b	H_a	Konfiguration
48a	6,03 ppm	5,10 ppm	S-Konfiguration
48a/48b	6,05 ppm	5,10 ppm	S-Konfiguration
		4,95 ppm	R-Konfiguration

Auffallend ist hierbei, daß für H_b der R- und S-Reihe nur ein Signal registriert wird, und nicht wie zu erwarten war, zwei Singuletts mit erheblicher chemischer Verschiebungsdifferenz.

Erwartungsgemäß zeigte das in DMSO d_6 aufgenommene NMR-Spektrum des S-Isomers **48a** (Abb. 20) die für die vier Hydroxylfunktionen des Zuckeranteils typischen Resonanzsignale im Bereich von δ= 4,40 - 5,20 ppm, die nach D_2O-Zugabe nicht mehr registriert werden. Das nach dem Austausch verbleibende Resonanzsignal bei δ = 5,10 ppm ist dem Dublett des S-Isomeren H_a am C-1 des Zuckers zuzuordnen, während das schwache Dublett, um 0,15 ppm nach höherem

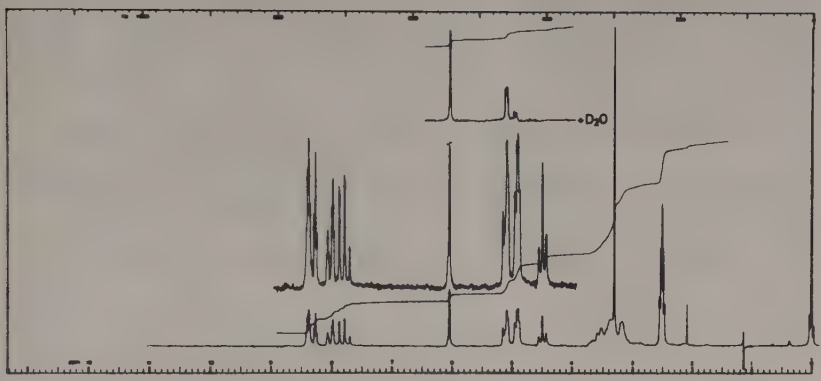


Abb.20 : 90-MHz-Spektrum von **48a** (DMSO d_6, 1000 Durchläufe)

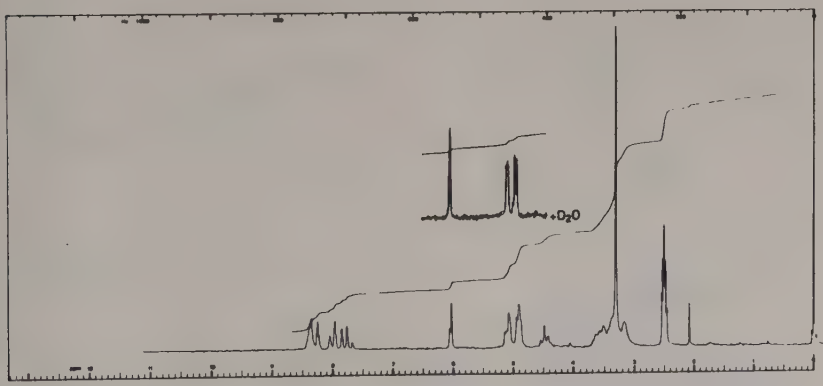


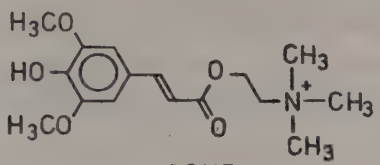
Abb. 21 : 90-MHz-Spektrum von **48b** (DMSO d_6, 435 Durchläufe)

Feld verschoben, dem H_a der R-isomeren Verbindung zuzuordnen ist.Der prozentuale Anteil an R-Isomer beträgt etwa 15%.

Die im NMR-Spektrum von **48b** (Abb.**21**)nach der D_2O-Zugabe registrierten Resonanzsignale bei δ= 4,95 ppm und δ= 5,10 ppm entsprechen ebenfalls dem H_a der R-und S-Form.Damit liegt in dieser Verbindung ein Isomerengemisch im Verhältnis 50:50 vor, obwohl die Darstellung aus dem reinen R-Isomer **47b** erfolgte. Im Gegensatz zum Methinproton H_b von **48a** ist H_b von **48b** deutlich angespalten,wobei dieses bei δ= 6,05 ppm auftretende Signal jedoch nach der D_2O-Zugabe nur noch als scharfes Singulett registriert wird.

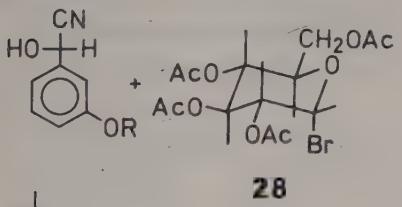
Zusammenfassung

1) Die postulierte Struktur **11** des Isoferulasäurecholinesters wurde durch eine unabhängige Synthese bestätigt. Der authentische Naturstoff zeigte mit dem Syntheseprodukt in allen physikalischen Konstanten und spektralen Daten völlige Übereinstimmung.

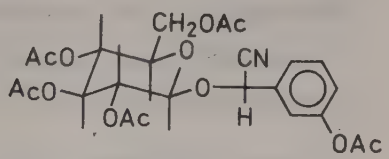


11 SCN^-

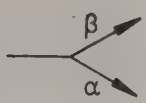
2) Die Synthese des cyanogenen ß-Glykosides Holocalin (**25 R**), des Isomers vom bekannten Zierin (**25 S**), erfolgte über sein Penta-O-acetylderivat **36 R**, dessen Darstellung aus dem Alkohol **32** und der Halogenose **28** in Acetonitril unter Katalyse des Quecksilbersalz-Gemisches durchgeführt wurde.

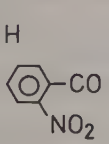


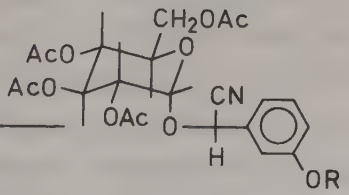
28

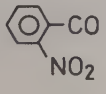


36 R



	R
32	Ac
35	H
40	



	R
37 R/S	Ac
38 R/S	H
41 R/S	

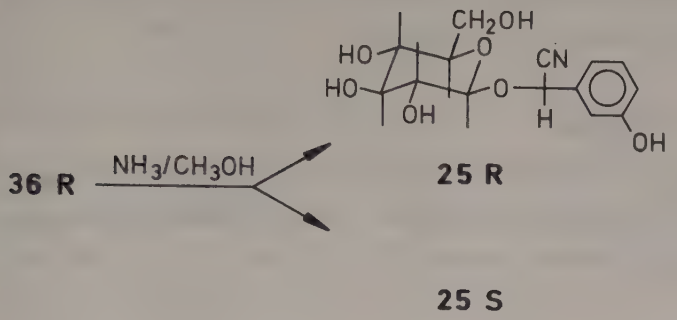
Eingehende Untersuchungen hatten nämlich überraschenderweise ergeben, daß unter diesen normalerweise für α-Glykosidsynthesen günstigen Reaktionsbedingungen nach Helferich, die Ausbeute des ß-glykosidischen **36 R** am höchsten war.

Außer der α-Penta-O-acetylverbindung **37** wurde noch das Tetraacetat **38** aus dem gleichen Ansatz isoliert, dessen Bildung aus dem Cyanhydrin **35** erfolgte, das als "Verunreinigung" in **32** vorlag. Nur bei Austausch der hydrolyseempfindlichen Phenolacetatgruppe gegen eine Aracylfunktion erhielt man eine einheitliche Alkoholkomponente **40** als Ausgangssubstanz.
Eine Holocalindarstellung über die leichter zugänglichen Glykosidderivate **38** und **41** konnte nicht realisiert werden, da bei deren Synthese ausschließlich α-Glykoside entstanden. Die α-Glykosidstruktur von **37**, **38** und **41** wurde durch die physikalisch-chemischen Daten abgesichert. Während bei den α-Glykosiden ein Gemisch beider Diastereomere isoliert wurde, konnte von den beiden entsprechenden ß-Isomeren nur **36 R** nachgewiesen werden. **36 S** wurde auf anderem Wege dargestellt.

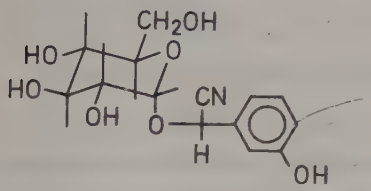
Die Konfigurationsbestimmung der acylierten ß-Derivate erfolgte NMR-spektroskopisch nach der Methode von Towers.

Die Entacetylierung von **36 R** mit ammoniakalischer Methanollösung lieferte neben dem Holocalin (**25 R**) als Hauptkomponente auch das Isomer Zierin (**25 S**) durch eine parallel verlaufende Racemisierung. Letztere Reaktion ist bei allen cyanogenen ß-Glykosiden mit einem wasserstofftragenden Asymmetriezentrum im Aglykon zu erwarten.

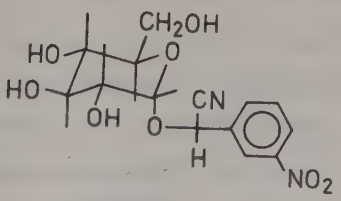
Eine NMR-spektroskopische Konfigurationsbestimmung der freien ß-Glykoside wird diskutiert.



Bei der Entacetylierung der α-Glykoside **37**, **38** und **41** unter den gleichen Bedingungen konnte das α-Glykosid **43** nicht isoliert werden. Als Ursache für die beobachtete Zersetzung ist die Alkalilabilität der α-glykosidischen Bindung verantwortlich. Der Abbau über das Phenolat kann nach den Ergebnissen bei der Darstellung von **48** aus **47** ausgeschlossen werden. Auch hier ist eine Isomerisierung festzustellen.



43 R/S



48a/b

Erstmalig gelang uns die säulenchromatographische Trennung von diastereomeren α-Isomeren bei der Tetraacetatverbindung **47**. An Hand der spektralen Daten wird eine Konfigurationsbestimmung für acylierte cyanogene α-Glykoside diskutiert.

Beschreibung der Versuche

Schmelzpunkte

Die Schmelzpunkte wurden mit dem Gerät "FP1" der Fa. Mettler ermittelt und unkorrigiert angegeben.

Spezifische Drehung

Die spezifische Drehung der optisch aktiven Substanzen wurde mit dem Perkin-Elmer 141 Polarimeter in den angegebenen Lösungsmitteln bei Natriumlicht gemessen.

IR-Spektren

Die Messungen erfolgten im Perkin-Elmer-Spektralphotometer Modell 421 und Modell 700.

NMR-Spektren

Die Kernresonanzspektren wurden mit den Geräten Varian A-60A bei 60 MHz, mit dem Varian XL-100 bei 100 MHz und dem Bruker HX-90 bei 90 MHz in den angegebenen Lösungsmitteln aufgenommen. Bei allen 90 MHz-Spektren handelt es sich um gepulste Spektren. Als innerer Standard diente TMS, nur bei den in D_2O aufgenommenen Spektren wurde TTP als innerer Standard verwendet. Die Angabe der chemischen Verschiebung erfolgt in ppm nach der δ-Skala.

Massenspektren

Die Aufnahme der Massenspektren erfolgte im Massenspektrometer CH7 Varian Mat, die Ionisationsspannung betrug 70 eV.

Elementaranalyse

Die Elementaranalysen wurden in den Mikroanalytischen Laboratorien der Fa. I.Beetz, Kronach und im Pharmazeutischen Institut der FU Berlin ausgeführt.

Dünnschichtchromatographie (DC)

Für die DC-Analyse wurden mit Kieselgel F254 beschichtete DC-Glasplatten "Merck" (MG) verwendet. Die Laufstrecke betrug 15 cm. Anwendung fanden die Fließmittel 1-4, die angegebenen Verhältnisse sind Volumenverhältnisse.

Fließmittel 1: Toluol/Isopropanol/konz. Ammoniak (40+45+15)
2: Chloroform/Methanol (97+3)
3: Benzol/Äther (60+40)
4: Äthylacetat/Methanol (90+10)

Die Detektion erfolgte durch UV-Löschung bei 254nm, mit Vanillin-Schwefelsäure-Reagenz, Dinitrophenylhydrazin-Reagenz und Roh-Emulsin-Lösung für die "Sandwich-Methode".

Roh-Emulsin-Lösung

50 g gemahlene süße Mandeln wurden mit 500 ml m/20 Phosphatpuffer pH 5,5 angerührt. Nach 1 Std. wurde durch ein Faltenfilter filtriert. Das Filtrat wurde zur Konservierung mit einigen Tropfen Toluol versetzt und im Eisschrank aufbewahrt.

Präparativ-säulenchromatographische Trennung

Die Trennungen wurden über die Säule mit daran angeschlossenen Fraktionssammlerautomaten durchgeführt. Als Säulenmaterial wurde nur Kieselgel "Woelm" (0,023-0,006 mesh) verwendet, das mit dem FM 3 oder mit Äthylacetat angeschlämmt, auf die Säule aufgebracht wurde. Das zu trennende Gemisch wurde in wenig Methanol gelöst auf die Säule gebracht und mit dem entsprechenden Elutionsmittel eluiert.

1.2.Darstellung des Isoferulasäurecholinester-rhodanids

3-Acetoxy-4-methoxyzimsäure (**5**)

0,97 g (0,005 mol) Isoferulasäure (**4**)wurden mit 2,04 g (0,02 mol) frisch destilliertem Acetanhydrid unter Schwefelsäurekatalyse im siedenden Wasserbad unter Rückfluß erhitzt.Nach Abkühlen des Reaktionsgemisches wurde es in Eiswasser gegossen ,aus dem **5** ausfiel.Die Umkristallisation erfolgte aus Aceton/ Wasser.

Ausbeute : 980 mg (83% d.Th.) Schmp. : 202,5°C (Lit.[57] 199°C)

IR-Spektrum (KBr) : 3410 cm^{-1} (OH-Val.); 1765 cm^{-1}(CO-Val.,Ester); 1685 cm^{-1}(CO-Val.,Säure); 1627 cm^{-1}(C=C-Val.)

$C_{12}H_{12}O_5$ (236,2) Ber.: C 61,01 H 5,12

Gef.: C 60,92 H 5,05

Isoferulasäure-ß-dimethylaminoäthanolester (**9**)

1,18 g (0,005 mol) **5** wurden mit 2,38 g Thionylchlorid am Rückfluß bis zur Beendigung der Gasentwicklung gekocht, und der Überschuß an Thionylchlorid abdestilliert.Das Säurechlorid **6** wurde in Toluol aufgenommen und unter Eiskühlung mit 1,51 g (0,017 mol) 2-Dimethylaminoäthanol (**7**)umgesetzt.Nach 12stdg.Reaktionszeit bei Raumtemperatur wurde der Ansatz mit Wasser versetzt,die Toluolphase abgetrennt,und die wässrige Phase 3 x mit Äther extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden unter Eiskühlung wiederholt mit 100 ml 5proz.Natronlauge ausgeschüttelt,wobei der basische Ester **9** unter Abspaltung der Acetylgruppe mit hellgelber Farbe in die wässrige Phase überging.Die vereinigten wässrigen Phasen wurden durch Zugabe von 20 g Kaliumhydrogencarbonat auf pH 8 gebracht

57) F.Tiemann und W.Will,Ber.Dtsch.Chem.Ges. 14,963 (1881)

und mit Äther erschöpfend extrahiert.Nach Trocknung über Na_2SO_4 und anschließendem Entfernen des Lösungsmittels i.Vak. erhielt man den Ester **9** als gelbe Substanz.

Ausbeute : 1,69 g (62,4% d.Th.) Schmp.: 105,2°C

Rf : 0,79 (Fließmittel 1)

IR-Spektrum (KBr): 3390 cm^{-1}(OH-Val.); 1705 cm^{-1}(CO-Val.,Ester); 1633 cm^{-1}(C=C-Val.,konj.Alken).

NMR-Spektrum ($CDCl_3$) : δ= 2,35 ppm (s,6H,-N(CH_3)$_2$); 2,67 ppm (t, 2H,-CH_2-CH_2-O); 3,78 ppm (s,3H,-OCH_3); 4,32 ppm (t,2H,-CH_2-CH_2-O); 6,03/6,29 ppm (d,1H,tr-HC=CH-CO,J=.15 Hz); 6,60-7,70 ppm (m,4H, 3 aromat.H,1 phenol.H,austauschbar); 7,39/7,65 ppm (d,1H,tr-HC=CH-CO, J = 15,5 Hz).

$C_{14}H_{19}NO_4$ (265,3) Ber.: C 63,38 H 7,22 N 5,28

Gef.: C 63,64 H 7,18 N 5,23

Isoferulasäurecholinester-jodid (**10**)

0,2 g **9** wurden mit 2 ml Chloroform gelöst und mit Methyljodid im Überschuß versetzt.Nach 10stdg.Reaktionszeit bei Raumtemperatur entfernt man das überschüssige Methyljodid i.Vak..Umkristallisation aus wenig Wasser ergab ein reines **10**.

Ausbeute : 270 mg (87,8% d.Th.) Schmp.: 218,1°C

IR-Spektrum (KBr): 3380 cm^{-1}(OH-Val.); 1695 cm^{-1}(CO-Val.,Ester); 1618 cm^{-1}(C=C-Val.,konj.Alken); 1600/1578/1497 cm^{-1}(C=C-Val.,Aromat.).

$[C_{15}H_{22}NO_4]J$ (407,3) Ber.: C 44,24 H 5,45 N 3,44

Gef.: C 44,50 H 5,45 N 3,47

Isoferulasäurecholinester-rhodanid (**11**)

0,2 g des Jodids **10** wurden in 100ml Wasser gelöst, über eine rhodanidbeladene Dowex 1X2-Säule gegeben und mit 50proz.Äthanol nachgewaschen.Den drei gesammelten Fraktionen wurden zur Überprüfung des quantitativen Austausches Proben entnommen,die auf Filterpapierstreifen aufgetüpfelt wurden.Als Kontrollsubstanz trug man die Ausgangsverbindung **10** als vierten Punkt auf. Nach dem Besprühen mit einer wässrigen $FeCl_3$-Lsg.ergaben die Fraktionen 1 und 2 eine positive Reaktion auf das Rhodanidanion.Als weiterer Nachweis diente die Reaktion mit Dragendorff's-Reagenz [58] .Außer Fraktion 3 reagierten alle übrigen positiv.Die vereinigten Eluate von 1 und 2 wurden i.Vak. schonend eingeengt.Der Rückstand kristallisierte aus wenig heißem Wasser und ergab reines **11**.

Ausbeute : 120 mg (72,1%d.Th.) Schmp.: 154,2°C (Lit.[1] 154,2°C)

IR-Spektrum (KBr) : s.theor.Teil

NMR-Spektrum (DMSO d_6) :s.Theor.Teil

$[C_{15}H_{22}NO_4]SCN$ (338,4) Ber.: C 56,78 H 6,55 N 8,28

Gef.: C 56,55 H 6,54 N 8,30

58) H.Thies und F.W.Reuther,Naturwissenschaften 41,230 (1954)

1.3.1. Umesterungsreaktions mit p-(Trimethylsilyloxy)-benzoesäuretrimethylsilylester

p-(Trimethylsilyloxy)-benzoesäuretrimethylsilylester (**15**)

In einem Dreihalskolben mit Rückflußkühler,Rührer und Tropftrichter wurde eine Mischung von 27,6 g (0,2 mol) p-Hydroxybenzoesäure (**13**), 41,1 g (0,4 mol) Triäthylamin und 200 ml über Natrium getrocknetem Benzol zum Sieden erhitzt.Unter ständigem Rühren ließ man 43,5 g (0,4 mol) Trimethylchlorsilan (**14**) innerhalb 1,5 Std. zutropfen und nach weiterem 1stdg. Erhitzen unter Rückfluß die Lösung auf Raumtemperatur abkühlen.Die Abtrennung des ausfallenden Triäthylaminhydrochlorids erfolgte durch Filtration über eine mit Filtercell bedeckte Nutsche. Zur Erhöhung der Ausbeute des im gelblichen Filtrats befindlichen Esters **15** wurde der Niederschlag mehrmals mit wasserfreiem Benzol ausgewaschen.Nach Abziehen des Lösungsmittels destillierte **15** i.Vak..Alle Arbeiten mußten unter völligem Feuchtigkeitsausschluß durchgeführt werden.

Ausbeute : 35,3 g (62,4% d.Th.) Sdp.: 174°C/32-34 Torr

IR-Spektrum ($CHCl_3$) : 2950 cm^{-1}(CH-Val.); 1675 cm^{-1}(CO-Val.,Ester); 1585/1490 cm^{-1}(C=C-Val.,Aromat).

NMR-Spektrum ($CDCl_3$) : s.theor.Teil

$C_{13}H_{22}O_3Si_2$ (282,2) Ber.: C 55,32 H 7,79

Gef.: C 55,48 H 7,79

Darstellung des p-Hydroxybenzoesäure-ß-dimethylaminoäthanol-esters (**16**) über **15**.

2,82 g (0,01 mol) **15** wurden mit 2,67 g (0,03 mol) Aminoäthanol **7** unter Rückfluß und ständigem Rühren 5Std. erhitzt.Anschließend wurde der Ansatz in 70 ml Äther aufgenommen,das unlösliche Salz **17** abgetrennt, und der Ester **16** aus ammoniakalischem Milieu ausgeschüttelt,nachdem die Säure **13** vorher aus schwefelsaurem Medium abgetrennt worden war.Umkristallisation von **16** aus Ligroin.

Ausbeute : 0,03 g (1,45% d.Th.) Schmp.: 137,5°C

Alle physikalischen und spektralen Daten sind identisch mit denen von **16**,dargestellt mit Bortrifluorid-Ätherat-Komplex.

Ausbeute an **17** : 275 mg Schmp.: 155,7°C

Der Schmp. sowie das IR-Spektrum von **17** waren identisch mit dem der Verbindung,die nach Zugabe des Alkohols **7** zu einer konzentrierten äthanolischen Lsg.von **13** beim Erkalten auskristallisierte.

IR-Spektrum von **17** (KBr) : s.theor.Teil

1.3.2.Darstellung des p-Hydroxybenzoesäure-ß-dimethylaminoäthanol-esters (**16**) mit Bortrifluorid-Ätherat-Komplex

Zu einer Mischung von 1,38 g (0,01 mol) Säure **13** und 0,89 g (0,01 mol) Alkohol **7** wurden bei Raumtemperatur und unter ständigem Rühren 4,2 g Bortrifluorid-Ätherat-Komplex (entspr.0,03 mol Bortrifluorid) hinzugesetzt.Beim Erhitzen im Ölbad bis auf 155°C Badtemperatur ging unter Rühren allmählich alles in Lösung.Nach 5,5stdg. Reaktionszeit wurde das Gemisch mit Wasser versetzt. Die Abtrennung der nicht umgesetzten Säure **13** erfolgte durch Ausschütteln im

schwefelsaurem Milieu mit Äther ,den Ester **16** isolierten wir durch Ausäthern aus ammoniakalischem Medium.Umkristallisation aus Ligroin.

Ausbeute : 1,45 g (69,4% d.Th.) Schmp.: 137,5°C

Rf : 0,59 (Fließmittel 1)

IR-Spektrum (KBr) : 3395 cm^{-1} (OH-Val.) 2790 cm^{-1} (CH-Val.); 1705 cm^{-1} (CO-Val. Ester).

NMR-Spektrum (Aceton d_6) : s.theor.Teil

$C_{11}H_{15}NO_3$ (209,2)	Ber.:	C	63,15	H	7,22	N	6,69
	Gef.:	C	63,12	H	6,97	N	6,69

p-Hydroxybenzoesäure-ß-diäthylaminoäthanolester (**16c**)

Entsprechende Synthese wie beim Dimethylderivat **16**.

Ausbeute : 74,5% d.Th. Schmp.: 84,9°C

Rf : 0,64 (Fließmittel 1)

IR-Spektrum (KBr) : 3395 cm^{-1} (OH-Val.); 1685 cm^{-1} (CO-Val.,Ester);

NMR-Spektrum (Aceton d_6) : δ= 1,00 ppm (t,6H,$-N(CH_2-CH_3)_2$); 2,70 ppm (mc,6H,$-CH_2-N(CH_2-CH_3)_2$); 4,35 ppm (t,2H,$-O-CH_2-CH_2-$); 6,70 -8,00 ppm (q,4H,aromat.H); 8,18 ppm (s,1H,OH,austauschbar mit D_2O).

$C_{13}H_{19}NO_3$ (237,3)	Ber.:	C	65,79	H	8,01	N	5,90
	Gef.:	C	66,00	H	7,94	N	5,89

3-Hydroxybenzoesäure-ß-dimethylaminoäthanolester (**16a**)

Die Darstellung von **16 a** erfolgte auch unter Verwendung des Bortrifluorid-Ätherat-Komplexes, jedoch bei einer Badtemperatur von 175°C und einer maximalen Reaktionszeit von 4 Std.Die Aufarbeitung

erfolgte entsprechend der, wie bei **16** beschrieben. Man erhielt ein gelbes Öl.

Ausbeute : 75,7% d.Th.

Rf : 0,62 (Fließmittel 1)

IR-Spektrum ($CHCl_3$) : 1710 cm^{-1} (CO-Val., Ester); 1600 cm^{-1} (C=C-Val.);

NMR-Spektrum Aceton d_6 : δ = 2,30 ppm (s,6H,-N(CH_3)$_2$); 2,70 ppm (t,2H,-O-CH_2-CH_2-); 4,30 ppm (t,2H,-O-CH_2-CH_2-); 6,20 ppm (s,breit, 1H,OH,austauschbar); 6,95-7,20 ppm (m,4H,aromat.H).

$C_{11}H_{15}NO_3$ (209,3) Gef.: (massenspektrometr.) 209

p-Aminobenzoesäure-ß-dimethylaminoäthanolester (**16 b**)

1,37 g (0,01 mol) p-Aminobenzoesäure wurden mit 0,89 g (0,01 mol) **7** und 0,04 mol Bortrifluorid (5,6 g Ätherat-Komplex) unter den gleichen Bedingungen wie bei **16 a** umgesetzt. Umkristallisation erfolgte aus Ligroin.

Ausbeute : 1,71 g (82,3% d.Th.)

Schmp.: 119,1°C (Lit.[59] 120-121°C)

Rf : 0,80 (Fließmittel 1)

IR-Spektrum ($CHCl_3$) : 3420 cm^{-1} (NH-Val.); 1695 cm^{-1} (CO-Val., Ester).

NMR-Spektrum (Aceton d_6) : δ= 2,32 ppm (s,6H,-N(CH_3)$_2$); 2,65 ppm (t,2H,-O-CH_2-CH_2-); 4,33 ppm (t,2H,-O-CH_2-CH_2-); 5,30 ppm (s, breit, 1H,OH,austauschbar); 6,60-8,00 ppm (m,4H,aromat.H).

$C_{11}H_{16}N_2O_3$ (208,2) Ber.: C 63,45 H 7,74 N 13,44

Gef.: C 63,34 H 7,80 N 13,39

59) Hoechster.Farbw., D.R.P. 179627, (C 1907, I, 1363)

2.4.1. Cyanhydrinsynthese über das Hydrogensulfit-Additionsprodukt

3-Acetoxybenzaldehyd (**33**)

12,2 g (0,1 mol) 3-Hydroxybenzaldehyd (**33a**)wurden mit 10,4 g Acetanhydrid und 11,7 g Pyridin unter Feuchtigkeitsausschluß im siedenden Wasserbad gekocht.Nach 1stdg.Reaktionszeit wurde der Ansatz in Eiswasser gegossen,und der sich ölig abscheidende Aldehyd **33** in Äther aufgenommen.Nach Entfernen des Pyridins durch mehrmaliges Schütteln mit 10proz.Salzsäure ,Trocknen der organ.Phase und Abziehen des Lösungsmittels,wurde **33** i.Vak. destilliert.

Ausbeute : 13,8 g (84,5% d.Th.) Sdp.: $103^{\circ}C/8 \cdot 10^{-2}$Torr(Lit.[60] $263^{\circ}C$)
Rf : 0,74 (Fließmittel 2) Rf : 0,58 (Fließmittel 1)
IR-Spektrum ($CHCl_3$) : 2830 cm^{-1}(CH-Val.,Aldehyd); 1765 cm^{-1}(CO-Val., Ester); 1695 cm^{-1}(CO-Val.,Aldehyd).
NMR-Spektrum (CCl_4) : δ = 2,23 ppm (s,3H,-OCC$\underline{H}_3$); 7,15-7,85 ppm (m,4H,aromat.H); 9,90 ppm (s,1H,-CHO).

3-Acetoxybenzaldehydcyanhydrin (**32**)

In eine 10proz.wässrigen Lsg.von 10,4 g $Na_2S_2O_5$ gibt man unter kräftigem Schütteln 16,4 g (0,1 mol) **33**.Nachdem alles gelöst war, wurde nach Zugabe von 140 ml Äther der Ansatz auf $0^{\circ}C$ abgekühlt. Danach wurde eine 20proz.wässrige Lsg.von 4,9 g (0,1 mol) Natriumcyanid langsam innerhalb 30 min.durch einen Tropftrichter zugesetzt. Unter ständigem Rühren und unter Eiskühlung war die Umsetzung nach einer weiteren Stunde beendet.Nach Abtrennung der organischen Phase wurde die wässrige Phase 2-3 mal mit je 50 ml Äther extrahiert.Die vereinigten organischen Auszüge behandelte man 2 mal mit je 60 ml

60) F.Tiemann und R.Ludwig,Ber.Dtsch.Chem.Ges. 15,2047 (1882)

einer 10proz. Natriummetabisulfitlösung, um nicht umgesetzten Aldehyd **33a** zu entfernen.Nach Trocknung über Na_2SO_4 und anschließendem Entfernen des Lösungsmittels ,wurde **32** 2Stunden an die Vakuumpumpe angeschlossen.Man erhielt als Rückstand ein hellgelbes Öl, das dc nicht einheitlich war.

Ausbeute : 14,1 g (73,5% d.Th.)

Rf : 0,32 (Fließmittel 2) Rf : 0,50 (Fließmittel 3)

IR-Spektrum ($CHCl_3$) : 3650 cm^{-1}(OH-Val.); 3390 cm^{-1}(OH-Val.,breit); 1745 cm^{-1}(CO-Val.,Ester); (Nitrilbande nicht nachweisbar).

NMR-Spektrum ($CDCl_3$): δ= 2,2 ppm (s,3H,-OCC$\underline{H}_3$); 3,83 ppm (s,1H,OH, breit,austauschbar); 5,44 ppm (s,1H,C_6H_4-C$\underline{H}$-); 6,80-7,50 ppm (m, 4,20 H,4 aromat.H,0,2 phenol.H,austauschbar).

3-Hydroxybenzaldehydcyanhydrin (**35**)

12,2 g (0,1 mol) **33a** wurden analog der Darstellung von **32** umgesetzt.Man erhielt eine feste Substanz, die aus Benzol/Petroläther 50-70° umkristallisiert wurde.

Ausbeute : 12,4 g (82,7% d.Th.) Schmp.: 109,4°C (Lit.[61] 110°C)

Rf : 0,1 (Fließmittel 2) Rf : 0,41 (Fließmittel 3)

IR-Spektrum (KBr) : 3315 cm^{-1}(OH-Val.,breit);(Nitrilbande nicht nachweisbar).

NMR-Spektrum (CD_3CN) : s.theor.Teil

$C_8H_7NO_2$ (149,1) Ber.: C 64,44 H 4,73 N 9,39

Gef.: C 64,28 H 4,61 N 9,37

61) A. Lapworth und R.H.F. Manske, J.Chem.Soc. 134, 2546 (1928)

2.5. Synthese der acylierten 3-Hydroxybenzaldehydcyanhydrin-glucoside

α-Acetobromglucose (**28**)

25,0 g (0,007 mol) ß-Pentaacetylglucose wurden unter Eiskühlung mit 50 g einer bei 0°C gesättigten Eisessig/Bromwasserstofflösung (30proz.) übergossen und durch kräftiges Schütteln in Lösung gebracht. Nach 2 Stunden war die Reaktion bei Raumtemperatur beendet. Die hellbraune Lösung wurde unter ständigem Rühren in 850 ml Eiswasser gegossen, und der nach dem Absaugen mit Eiswasser gewaschene Niederschlag mit 150 ml Äther in Lösung gebracht. Nach Abtrennen der wässrigen Phase trocknete man die organische Phase, engte die Lösung auf die Hälfte ihres Volumens ein und ließ in einer Eis-Kochsalzmischung **28** auskristallisieren. Die weißen Kristalle wurden mit stark vorgekühltem Äther gewaschen und i.Vak. getrocknet.

Ausbeute : 19,1 g (64,8% d.Th.) Schmp.: 91°C (Lit.[62] 88-89°C)

$[\alpha]_D^{20}$ = + 198,4° (identisch mit Literaturwert)

NMR-Spektrum ($CDCl_3$): = 1,98-2,22 ppm (4s, 12H, $(-OCCH_3)_4$); 4,15 ppm (mc, 3H, 5-H und 6-H_2); 4,94 ppm (dd, 1H, 2-H, J_{aa} = 7 Hz, J_{ae} = 4 Hz); 5,20 ppm (t, 1H, 4-H, J_{aa} = 7,5 Hz); 5,60 ppm (t, 1H, 3-H, J_{aa} = 7,5 Hz); 6,64 ppm (d, 1H, 1-H, J_{ae} = 3,5 Hz).

α-und ß-2-(2,3,4,6-Tetra-O-acetyl-D-glucopyranosyloxy)-2-(3-acetoxyphenyl)-acetonitril (**37** und **36**)

Eine Mischung von 1,98 g (0,01 mol) **32**, 1,26 g (0,005 mol) $Hg(CN)_2$ und 1,8 g (0,005 mol) $HgBr_2$ wurden in 25 ml über Molekularsieb getrocknetem Acetonitril unter Schütteln in Lösung gebracht. Dieser

62) E.Fischer, Ber.Dtsch.Chem.Ges. **49**, 584 (1916)

Lösung wurden 4,12 g (0,01 mol) α-Acetobromglucose (**28**) hinzugefügt.Nach kurzer Zeit trat eine Gelbfärbung des Reaktionsansatzes ein.Bei Raumtemperatur war die Reaktion unter Feuchtigkeitsausschluß nach 21Std. beendet.Die Lösung wurde i.Vak. bei einer Badtemperatur von maximal 35°C zur Trockne gebracht,und der gelbe, ölige Rückstand in 30 ml Chloroform aufgenommen.Die unlöslichen Quecksilbersalze wurden durch Filtration abgetrennt,während der noch im organischen Lösungsmittel befindliche Anteil dieser Salze durch 3maliges Ausschütteln mit je 20 ml 1N KBr-Lsg.entfernt wurde. Nach kurzer Trocknung über Na_2SO_4 und anschließendem Entfernen des Lösungsmittels i.Vak. wurde das gelbliche Öl von etwa 5 g mit 20 ml eines Acetanhydrid/Pyridin-Gemisches (50:50) versetzt und bei Raumtemperatur stehengelassen.Nach 12stdg. Reacetylierung wurde der Ansatz nach Zugabe von Wasser ,mit 150 ml Äther extrahiert und anschließend nacheinander mit 2 mal 30 ml einer 10proz. Salzsäure, 3 mal mit 25 ml einer 10proz.$NaHCO_3$-Lösung und 3 mal 30 ml Wasser aufgearbeitet.Man erhielt ca.4,5 g Öl.Säulenchromatographische Trennung der beiden Penta-O-acetate **37** und **36** erfolgte mit dem Benzol/Äther-Gemisch (6:4 ml/ml) und Kieselgel Woelm (0,023-0,006 mesh) als Sorbens,das im Elutionsmittel suspendiert, in eine Säule blasenfrei eingefüllt wurde.Das Penta-O-acetat-Gemisch wurde in 3ml Methanol gelöst auf die Säule gebracht. Bei einer Tropfgeschwindigkeit von 0,75 ml/min. wurden die Fraktionen (18,5 ml/25 min.) mit einem Fraktionssammler abgenommen.

Kieselgel : 1200 g

Säule : 225 cm Länge ; 4,5 cm Durchmesser

Fraktionen : 86 - 111 **37 R/S** und Verunreinigung mit größerem Rf

112 - 148 **37 R/S** Reinsubstanz

149 - 173 **37 R/S** und Substanz mit kleinerem Rf

174 - 190 Leerfraktionen

191 - 217 **36 R** Reinfraktionen

218 - 228 **36 R** und Substanz mit kleinerem Rf

Die Fraktionen 86-111 und 149-173 wurden eingeengt und zur Reinigung 2 mal über eine gleiche Säule rechromatographiert.Man erhielt eine dc-reine Substanz ,die aber nicht auskristallisierte. Die Trennung des Isomerengemisches von **37 R/S** über die Säule gelang nicht.

Daten für das α - Glykosid **37 R / S**

Ausbeute : 1,17 g (22,4% d.Th.) Schmp.: 74,8°C

Rf : 0,21 (Fließmittel 3)

$[\alpha]_D^{20}$ = + 107,4° (c= 1,12 in $CHCl_3$);(Isomerengemisch)

IR-Spektrum (KBr) : 2920 cm^{-1}(CH-Val.); 1740 cm^{-1}(CO-Val.,Ester); (Nitrilbande nicht nachweisbar).

NMR-Spektrum ($CDCl_3$) : δ = 1,96-2,08 ppm (4s,12H,-$(COCH_3)_4$ des Zuckerrestes); 2,35 ppm (s,3H,phenol. $COCH_3$); 3,85-4,32 ppm (m,3H, 5-H und 6-H_2 des Zuckers); 4,80-5,70 ppm (m,5H,2-H,4-H,3-H und 1-H des Zuckers sowie C_6H_4-CH-);7,10 -7,60 ppm (m,4H,aromat.H)

$C_{24}H_{27}NO_{12}$ (521,5) Gef.: (massenspektrometr.) 521

Ber.: C 55,28 H 5,21 N 2,69

Gef.: C 55,17 H 5,28 N 2,42

Das Holocalinpentaacetat **36 R** wurde nach dem Einengen der Fraktionen 191-217 aus wenig Äther unter gelindem Erwärmen umkristallisiert.Aus den Fraktionen 218-228 konnte **36 R** durch fraktionierte Kristallisation noch gewonnen werden.

Ausbeute : 0,176 g **36 R** (3,36% d.Th.)

Schmp.: 129,8°C (Lit.[2] 99-102°C; Lit.[47] 129-130°C)

Rf : 0,62 (Fließmittel 2) Rf : 0,15 (Fließmittel 3)

$[\alpha]_D^{20}$ = - 8,94° (c= 1,6 in $CHCl_3$); (Lit.[2,47] -16,9°; -12°)

IR-Spektrum (KBr) : 1740 cm^{-1} (CO-Val., Ester); 1370 cm^{-1} (CH-Deform.); 1070 cm^{-1} (CO-Val., Äther).

NMR-Spektrum ($CDCl_3$) : s.theor.Teil

$C_{24}H_{27}NO_{12}$ (521,5)

Gef.:	(massenspektrometr.) 521				
Ber.:	C	55,28	H	5,21	N 2,69
Gef.:	C	55,14	H	5,29	N 2,86

Darstellung von **36 R** in Nitromethan /Benzol

1,98 g (0,01 mol) **32** , 2,52 g (0,01 mol) $Hg(CN)_2$ wurden in 30 ml über Molekularsieb getrockneten Nitromethan und 20 ml über Natrium getrocknetem Benzol gelöst .Zu dieser Lösung wurde dann 4,12 g (0,01 mol) Halogenose **28** hinzugefügt und 21 Stunden bei Raumtemperatur stehengelassen.Die Aufarbeitung erfolgte wie bei der Darstellung von **36 R** in Acetonitril.

Ausbeute : 626 mg (1,2% d.Th)

In allen physikalischen wie spektralen Daten zeigte diese Verbindung die gleichen Werte wie **36 R** ,dargestellt nach der Acetonitil-Methode.

2-(2,3,4,6-Tetra-O-acetyl-ß-D-glucopyranosyloxy)-2-(3-acetoxyphenyl)-acetonitril (**36 S**)

Das Isomer Zierinacetat (**36 S**) konnte nur durch eine Isomerisierung des aus **36 R** dargestelltem Holocalin **25 R** gewonnen werden. 156 mg **25 R** wurden in 10 ml Methanol gelöst und mit 0,3 ml einer 25proz. wässrigen Ammoniaklösung 24 Stunden bei Raumtemperatur stehengelassen. Nach Entfernen des Lösungsmittels i.Vak. wurde der Rückstand mit 4 ml eines Acetanhydrid/Pyridin-Gemisches (50:50) versetzt und weitere 10 Stunden stehengelassen. Der Ansatz wurde wie bei der Acetonitril-Methode beschrieben, aufgearbeitet.
Die Trennung des Isomerengemisches von **36 S** und **36 R** gelang säulenchromatographisch mit dem Elutionsmittel Benzol/Äther-Gemisch (60:40, ml/ml).

Kieselgel : 80 g

Säule : 45 cm Länge ; 2 cm Durchmesser

Fraktionen von 18,5 ml (990 Tropfen) in 25 min.

Fraktionen :	12 - 18	**36 S** Reinsubstanz
	19 - 23	Leerfraktionen
	24 - 25	**36 R** Reinsubstanz

Nach dem Einengen der Fraktionen 12-18 konnte **36 S** aus Methanol/Wasser durch Umkristallisation gewonnen werden.

Ausbeute : 115 mg **36 S**

Schmp.: 118,6°C (Lit.[22,47], 115-118°C; 117,5-118,5°C)

Rf : 0,19 (Fließmittel 3)

$[\alpha]_D^{20} = -48,3^\circ$ (c= 1,0 in $CHCl_3$) (Lit.[47] -50°)

IR-Spektrum (KBr) : 1750 cm^{-1} (CO-Val., Ester); 1035-1090 cm^{-1} (CO-Val.)

NMR-Spektrum ($CDCl_3$) : s.theor.Teil

Ausbeute : 23 mg **36 R**

2.5.2. Darstellung des 2-(2,3,4,6-Tetra-O-acetyl- α -D-glucopyranosyloxy)-2-(3-hydroxyphenyl)-acetonitrils (**38**)

1,49 g (0,01 mol) **35** wurden mit 1,8 g (0,005 mol) $HgBr_2$ und 1,26 g (0,005 mol) $Hg(CN)_2$ in 25 ml wasserfreiem Acetonitril gelöst. Nachdem 4,12 g (0,01 mol) Halogenose **28** hinzugefügt worden war, blieb der Ansatz 21 Stunden bei Raumtemperatur unter Feuchtigkeitsausschluß stehen. Nach Entfernen der Quecksilbersalze mit N-KBr-Lösung und anschließender Trocknung der Chloroformlösung wurde der Ansatz über die Säule getrennt,

Kieselgel : 1000 g

Säule : 225 cm Länge ; 4,5 cm Durchmesser

Fraktionen von 18,5 ml (990 Tropfen) in 25 min.

Elutionsmittel : Benzol/Äther (60:40,ml/ml)

Fraktionen : 119 - 138 **38** und Verunreinigung mit größerem Rf

139 - 157 **38** DC-einheitliche Substanz

158 - 172 **38** und Verunreinigung mit kleinerem Rf

Da **38** nicht aus den Fraktionen 139-157 kristallisierte, wurde es aus einem Methanol/Wasser-Gemisch ausgefällt. Die Fraktionen 119-138 sowie die von 158-172 wurden erneut über die Säule rechromatographiert. Auch hier war das vorliegende Isomerengemisch nicht aufzutrennen.

Ausbeute : 1,141 g (23,8% d.Th.) Schmp.: 56,9°C

Rf : 0,15, einheitlich (Fließmittel 3)

$[\alpha]_D^{20}$ = + 120,3° (c= 1,10 in $CHCl_3$); (Isomerengemisch)

IR-Spektrum (KBr) : 3430 cm^{-1}(OH-Val.); 2940 cm^{-1}(CH-Val.);1745 cm^{-1} (CO-Val.,Ester) .

NMR-Spektrum ($CDCl_3$) : s.theor.Teil

$C_{22}H_{25}NO_{11}$ (479,4) Gef.: (massenspektrometr.) 479

Ber.: C 55,12 H 5,25 N 2,92

Gef.: C 55,03 H 5,28 N 2,75

2.5.3. Darstellung des 2-(2,3,4,6-Tetra-O-acetyl- α -D-glucopyranosyloxy)-2-[3-(2'-nitrobenzoyloxy)-phenyl]-acetonitrils (**41**)

3-(2-Nitrobenzoyloxy)-benzaldehyd (**39**)

15,1 g (0,1 mol) 2-Nitrobenzoesäure wurden mit der 5fachen Menge an Thionylchlorid versetzt und 3 Stunden im Wasserbad unter Feuchtigkeitsausschluß erhitzt. Nicht umgesetztes Thionylchlorid wurde durch Destillation entfernt.Zum 2-Nitrobenzoylchlorid als hellgelbe Flüssigkeit fügte man dann eine äquimolare Mischung des 3-Hydroxybenzaldehyds (**33a**) in Pyridin hinzu und erhitzte weitere 45 min. im Wasserbad.Nach Ablauf der Reaktionszeit wurde der Ansatz in Eiswasser gegossen und langsam mit 25proz.Salzsäure angesäuert. Der Niederschlag wurde dann mit 300 ml Äther aufgenommen und zur Entfernung der nicht umgesetzten Carbonsäure sowie des Ausgangsaldehyds **33a** mit 5proz.Natronlauge 3 mal geschüttelt.Nach dem Neutralwaschen ,Trocknen über Na_2SO_4 erhielt man nach dem Abziehen des Lösungsmittels i.Vak. aus Aceton/Petroläther 50-70° Kristalle von **39**.

Ausbeute : 21,16 g (78% d.Th.) Schmp.: 118,5°C

Rf: 0,75 (Fließmittel 2) Rf : 0,56 (Fließmittel 3)

IR-Spektrum (KBr) : 1750 cm^{-1} (CO-Val., Ester); 1685 cm^{-1} (CO-Val., Aldehyd); 1518 /1340 cm^{-1} (NO_2-Val., konj. Nitrogruppe).

NMR-Spektrum (CD_3CN): δ = 7,50-8,30 ppm (m,8H,aromat.H); 10,6 ppm (s,1H,-CHO).

$C_{14}H_9NO_5$ (271,3) Gef.: (massenspektrometr.) 271

Ber.: C 61,98 H 3,34 N 5,17

Gef.: C 61,72 H 3,46 N 5,21

3-(4-Nitrobenzoyloxy)-benzaldehyd (**39a**)

Die Darstellung dieses 4-Nitroderivates **39a** wurde entsprechend **39** vorgenommen. Gelbe Kristalle aus Aceton/Petroläther 50-70°.

Ausbeute : 15,19 g (56% d.Th.) Schmp.: 136,5°C

NMR-Spektrum (CD_3CN) : δ= 7,50-8,00 ppm (m,4H,aromat.H); 8,33 ppm (s,4H,orthoständige Protonen zur Nitro-und Esterfunktion); 10,96 ppm (s,1H,-CHO).

$C_{14}H_9NO_5$ (271,3) Gef.: (massenspektrometr.) 271

3-(2-Nitrobenzoyloxy)-benzaldehydcyanyhdrin (**40**) nach Variante B

2,71 g (0,01 mol) **40** wurden mit einem Gemisch von je 40 ml Benzol/Äther versetzt, wobei nicht alles in Lösung ging. Zu dieser Suspension gab man eine Lösung von 0,65 g (0,01 mol) KCN in 40 ml Wasser und schließlich 1,56 g (0,03 mol) NH_4Cl in 40 ml Wasser gelöst hinzu. Nach 2stdg. Rühren bei Raumtemperatur wurde die organische Phase abgetrennt und erneut mit dem KCN/NH_4Cl-Gemisch gleicher Konzentration wie oben umgesetzt. Aus der organischen Phase erhielt man nach üblicher Aufarbeitung aus dem Rückstand durch Umkristallisation aus Äther/Petroläther 40-60° nach 48stdg. Stehenlassen im Kühlschrank weiße Nadeln.

Ausbeute : 1,28 g (42,9% d.Th.) Schmp.:90,5°C

Rf : 0,32 (Fließmittel 2) Rf : 0,54 (Fließmittel 3)

IR-Spektrum ($CHCl_3$) : 3565 cm^{-1}(OH-Val.,frei); 3295 cm^{-1}(OH-Val., H-Brücke); 1746 cm^{-1}(CO-Val.,Ester); 1530/1345 cm^{-1}(NO_2-Val.,konj. Nitrogruppe);(Nitrilbande nicht nachweisbar).

NMR-Spektrum (CD_3CN) : δ= 4,83 ppm (s,1H,OH,austauschbar);5,71 ppm (s,1H,C_6H_4-C<u>H</u>-); 7,2o-8,18 ppm (m,8H,aromat.H).

$C_{15}H_{10}N_2O_5$ (298,3) Gef.: (massenspektrometr.) 298

Ber.: C 60,40 H 3,38 N 9,39

Gef.: C 60,65 H 3,33 N 9,38

2-(2,3,4,6-Tetra-O-acetyl- α-D-glucopyranosyloxy)-2-[3-(2'-nitro-benzoyloxy)-phenyl]-acetonitril (**41**)

0,894 g (0,003 mol) **40** ,0,34 g (0,0015 mol) $Hg(CN)_2$ und 0,54 g (0,0015 mol) $HgBr_2$ wurden in 30 ml wasserfreiem Acetonitril gelöst und mit 1,23 g (0,003 mol) Halogenose **28** umgesetzt. Die Reaktionszeit betrug maximal 28 Stunden .Säulenchromatographische Trennung erfolgte nach Entfernen der Quecksilbersalze mit 1N-KBr-Lösung wie früher beschrieben.

Kieselgel : 370 g

Säule : 145 cm Länge ; 3 cm Durchmesser

Fraktionen von 17,5 ml (940 Tropfen) in 25 min.

Elutionsmittel : Benzol/Äther (60:40,ml/ml)

Fraktionen: 64 - 73 **41** und Substanz mit größerem Rf

74 - 87 **41** Reinsubstanz

88 - 95 **41** und Substanz mit kleinerem Rf

Die verunreinigten Fraktionen 64-73 und 88-95 wurden erneut auf die Säule gegeben, während die Reinfraktionen aus Äther umkristallisiert wurden. Man erhielt zum ersten Mal ein reines Isomer **41** in Form weißer Nadeln. Die DC-einheitliche Mutterlauge wurde durch Fällung mit Petroläther aus der ätherischen Lösung isoliert.

Ausbeute : 0,540 (28,7% d.Th.)

Daten für das Isomer **41 S**:

Rf : 0,20 (Fließmittel 3) Schmp.: 110,2°C

$[\alpha]_D^{20}$ = +87,7 ° (c= 0,62 in $CHCl_3$)

IR-Spektrum (KBr) : 1745 cm^{-1} (CO-Val., Ester); 1530/1360 cm^{-1} (NO_2-Val., konj. Nitrogruppe).

NMR-Spektrum ($CDCl_3$) : δ= 1,96-2,02 ppm (s,6H,$(COCH_3)_2$); 2,07-2,13 ppm (2s,6H,$(COCH_3)_2$); 4,10 ppm (mc,3H,5-H und 6-H_2 des Zuckers); 4,95 ppm (dd,1H,2-H des Zuckers, J_{aa}= 8 Hz, J_{ae}= 4 Hz); 5,07 ppm (t, 1H,4-H des Zuckers, J_{aa}= 9 Hz); 5,40 ppm (d,1H, H_a des Zuckers, J_{ae}= 3,5 Hz); 5,42 ppm (t,1H,3-H des Zuckers , J_{aa}=10 Hz); 5,53 ppm (s,1H,H_b); 7,30-8,12 ppm (m,8H,aromat.H);

$C_{29}H_{28}N_2O_{14}$ (628,4) Ber.: C 55,43 H 4,49 N 4,46

Gef.: C 55,29 H 4,57 N 4,21

Daten für das Isomerengemisch **41 R /S**

Rf : 0,20 (Fließmittel 3) Schmp.: 69,9°C

$[\alpha]_D^{20}$ = + 92,3° (c= 2,0 in $CHCl_3$)

IR-Spektrum (KBr) : Deckungsgleich mit dem des reinen Isomeren.

NMR-Spektrum ($CDCl_3$) : δ = 1,95-2,20 ppm (4s,12H,$(COCH_3)_4$); 4,10 ppm

(mc,3H,5-H und 6-H_2des Zuckers); 4,80-5,60 ppm (m,5H,2-H,4-H, 3-H und H_a des Zuckers sowie H_b,C_6H_4-CH-); 7,28 -8,12 ppm (m,8H, aromat.H).

$C_{29}H_{28}N_2O_{14}$	(628,4)	Ber.:	C	55,43	H	4,49	N 4,46
		Gef.:	C	55,26	H	4,51	N 4,23

2.6.1. Darstellung von 2-(ß-D-Glucopyranosyloxy)-2-(3-hydroxy-phenyl)-acetonitril (**25 R**)

Die Lösung von 0,625 g (0,0012 mol) **36 R** in 15 ml Methanol wurde auf 0°C gekühlt.Dazu gab man 5 ml bei 0°C mit NH_3 gesättigtes Methanol und ließ den Ansatz 3 Stunden unter Eiskühlung stehen. Nach Entfernen des Ammoniak/Methanol-Gemisches im Vakuum bei einer Badtemperatur von 35°C wurde der Rückstand mit wenig Methanol aufgenommen und auf eine Säule von Kieselgel gebracht,das in Essigester suspendiert,eingefüllt worden war.Die Trennung des Gemisches erfolgte zunächst mit Äthylacetat,dann mit dem Gemisch Äthylacetat/Methanol (9:1).Diejenigen Fraktionen ,die eine positive HCN-Reaktion nach der"Sandwich Methode"mit "Feigl-Anger Reagenzpapier"ergaben, wurden i.Vak. schonend eingeengt,und der Rückstand von 0,32 g in wenig heißem Essigester gelöst und anschließend filtriert. Nach Zugabe von $CHCl_3$ bis zur beginnenden Trübung schieden sich allmählich feine ,weiße Nadeln ab,die nach 48stdg. Stehen im Kühlschrank abgesaugt und i.Vak.getrocknet wurden. Aus der Mutterlauge konnte durch wiederholte Kristallisation eine zweite Substanz isoliert werden ,die das Isomerengemisch von **25 R** und **25 S** darstellte,deren Trennung aber säulenchromatographisch nicht gelang.

Kieselgel : 120,0 g

Säule : 110 cm Länge ; 2,3 cm Durchmesser

Fraktionen von 17 ml (880 Tropfen) in 21 min.

Elutionsmittel : 1. Äthylacetat 200 ml

2. Äthylacetat/Methanol (9:1,ml/ml)

Fraktionen : 21 - 22 **25 R** und Substanz mit größerem Rf

23- 34 **25 R** Reinsubstanz

35- 39 **25 R** und Substanz mit kleinerem Rf

Ausbeute : 255 mg von **25 R** (68,3% d.Th.)

Schmp.: 154,1°C (Lit.[2,47] 154-155°C)

$[\alpha]_D^{20}$ = - 58,8° (c= 140 in Äthanol);(Lit.[2] -59,14°)

IR-Spektrum (KBr) : 3330 cm^{-1}(OH-Val.,breit); 2930 cm^{-1}(CH-Val.); 1600 cm^{-1}(C=C-Val.,Aromat.); 1080-1040 cm^{-1} (CO-Val.,Äther);

Das Spektrum ist deckungsgleich mit dem einer authentischen Probe des Naturproduktes.

NMR-Spektrum ($DMSO_{d6}$) : s.theor.Teil

NMR-Spektrum (D_2O) : δ = 3,10-4,15 ppm (m,6H,2-H,3-H,4-H,5-H und 6-H_2 des Zuckers); 4,40-490 ppm (D_2O-Signal unter dem H_a des Zuckers liegt.); 5,82 ppm (s,1H,H_b, O-CH-CN); 6,80-7,60 ppm (m,4H, aromat.H).

$C_{14}H_{17}NO_7$ (311,3) Ber.: C 53,97 H 5,47 N 4,50

Gef.: C 53,72 H 5,48 N 4,38

Daten des Isomerengemisches **25 R/25 S**

Rf : 0,16 (identisch mit dem von **25 R**),(Fließmittel 4)

NMR-Spektrum (D_2O) : δ= 5,81 ppm (s,0,2 H,H_b,-O-CH-CN,R-Isomer); 5,98 ppm (s,0,8H,H_b -O-CH-CN,S-Isomer).

2.7.1. Darstellung von 2-(2,3,4,6-Tetra-O-acetyl- α-D-glucopyranosyloxy)-2-(3-nitrophenyl)-acetonitril (**47 a / 47 b**)

3-Nitrobenzaldehydcyanhydrin (**46**) nach Variante B

5,03 g (0,033 mol) **45** wurden in 50 ml Äther gelöst und mit 2,15g (0,033 mol) KCN und 5,3 g (0,1 mol) NH_4Cl, gelöst in je 25 ml Wasser, umgesetzt. Nach 1stdg. Rühren bei Raumtemperatur wurde die organische Phase erneut mit der gleichen Menge an KCN/NH_4Cl-Lösung umgesetzt. Nach 2,4stdg. Reaktionzeit war **46** quantitativ gebildet. Die organische Phase wurde getrocknet über Na_2SO_4 und nach dem Entfernen des Äthers 1 Stunde an die Vakuumpumpe angeschlossen. Man erhielt ein gelbliches Öl, das dc-einheitlich war.

Ausbeute : 4,36 g (76,6% d.Th.)

Rf : 0,37 (Fließmittel 2) Rf : 0,57 (Fließmittel 3)

IR-Spektrum ($CHCl_3$) : 3570 cm^{-1} (OH-Val., frei); 3290 cm^{-1} (OH-Val., H-Brücke, breit); 1700 cm^{-1} (CO-Val., Aldehyd, schwach); 1525/1335 cm^{-1} (NO_2-Val., konj. Nitrogruppe); 1030-1090 cm^{-1} (CO-Val.); (Nitrilbande nicht nachweisbar).

NMR-Spektrum ($CDCl_3$) : δ = 4,80 ppm (s,1H,breit,-CH-O<u>H</u> ,austauschbar); 6,35 ppm (s,1H,C_6H_4-C<u>H</u>-O-); 7,90-9,40 ppm (m,4H,aromat.H); 10,68 ppm (s,1H,C_6H_4-C<u>H</u>O).

2-(2,3,4,6-Tetra-O-acetyl- α-D-glucopyranosyloxy)-2-(3-nitrophenyl)-acetonitril(**47 a / 47 b**)

5,37 g (0,03 mol) **46** wurden in 100 ml über Molekularsieb getrocknetem Acetonitril mit 3,40 g (0,015 mol) $Hg(CN)_2$ und 4,90 g (0,015 mol) $HgBr_2$ unter Schütteln gelöst.

Dann wurde nach Zugabe von 12,36 g (0,03 mol) Halogenose **28** der Ansatz unter Feuchtigkeitsausschluß 24 Stunden bei Raumtemperatur stehengelassen. Die Aufarbeitung erfolgte wie früher beschrieben, jedoch ohne Acetylierung.

Kieselgel : 1350 g

Säule : 225 cm Länge ; 4,5 cm Durchmesser

Elutionsmittel : Benzol/Äther (6:4,ml/ml)

Fraktionen von 17,5 ml (900 Tropfen) in 22 min.

Fraktionen : 102 - 113 **47 a** und Substanz mit größerem Rf

114 - 120 **47 a** Reinsubstanz

121 - 143 **47 a/b** dc-reines Isomerengemisch

144 - 150 **47 b** Reinsubstanz

151 - 163 **47 b** und Substanz mit kleinerem Rf

Das Isomerengemisch sowie die Fraktionen ,die Verunreinigungen enthielten ,wurden wiederholt über die Säule getrennt.

Ausbeute : 4,1 g (27% d.Th.)

Daten für das S-Isomer **47 a** :

Schmp.: 96,8°C(aus Äther/Petroläther)

$[\alpha]_D^{20}$ = + 120,9° (c= 1,12 in $CHCl_3$)

Rf : 0,25 (Fließmittel 3)

IR-Spektrum (KBr) : 2955 cm^{-1}(CH-Val.); 1745 cm^{-1}(CO-Val.,Ester); 1525/1345 cm^{-1}(NO_2-Val.,konj.Nitro-Gruppe); 1035 cm^{-1}(CO-Val.); (Nitrilbande nicht nachweisbar).

NMR-Spektrum ($CDCl_3$) : s.theor.Teil

$C_{22}H_{24}N_2O_{12}$ (508,4) Ber.: C 51,98 H 4,75 N 5,51

Gef.: C 52,00 H 4,73 N 5,51

Daten für das R-Isomer **47 b** :

Schmp.: 56,7°C (aus Methanol/Wasser)

Rf : 0,24 (Fließmittel 3)

$[\alpha]_D^{20}$ = + 67,1° (c= 0,8 in $CHCl_3$)

IR-Spektrum (KBr) : deckungsgleich mit dem von **47 a**.

NMR-Spektrum ($CDCl_3$) : s.theor.Teil

$C_{22}H_{24}N_2O_{12}$ (508,4) Ber.: C 51,98 H 4,75 N 5,51

Gef.: C 52,20 H 4,99 N 5,47

2.7.2.Darstellung von 2-(α -D-Glucopyranosyloxy)-2-(3-nitrophenyl)-acetonitril (**48 a** / **48 b**)

0,508 g (0,001 mol) **47 a** wurden in 20 ml Methanol gelöst und mit 2 ml bei 0°C mit Ammoniak gesättigtem Methanol umgesetzt.Unter ständiger Eiskühlung war die Reaktion nach 2,5 Stunden beendet.Der Ansatz wurde wie früher beschrieben aufgearbeitet.Die Isolierung der beiden Isomere konnte jedoch nur säulenchromatographisch durchgeführt werden.

Kieselgel : 95,0 g

Säule : 110 cm Länge ; 2,3 cm Durchmesser

Fraktionen von 17 ml (900 Tropfen) in 21 min.

Elutionsmittel : 1.Äthylacetat 100 ml

2.Äthylacetat/Methanol (9:1)

Fraktionen : 11 - 12 **48 a** und Verunreinigung mit größerem Rf

13 - 17 **48 a** Reinsubstanz

Ausbeute : 144 mg **48 a** (S-Isomer) (42,3% d.Th.)

Rf : 0,15 (Fließmittel 4)

$[\alpha]_D^{20}$ = + 105,5° (c= 0,2 in Äthanol)

Schmp.: 179°C (aus Äthylacetat/Petroläther)

IR-Spektrum (KBr) : 3490 / 3400 cm^{-1} (OH-Val.); 2925 cm^{-1} (CH-Val.); 1525 / 1345 cm^{-1} (NO_2-Val., konj. Nitro-Gruppe); 1070 cm^{-1} (CO-Val., Äther).

NMR-Spektrum (DMSO d_6) : δ = 3,05-3,80 ppm (m, 6H, 2-H, 3-H, 4-H, 5-H und 6-H_2 des Zuckerrestes); 4,50 ppm (t, 1H, OH am C-6 des Zuckerrestes, austauschbar); 4,83-5,00 ppm (2d, 2,15 H; OH am C-3 und C-4 des Zuckerrestes, austauschbar; 0,15H, H_a (1-H des Zuckerrestes)); 5,10 ppm (d, 1,85H, 1OH am C-2 des Zuckerrestes, austauschbar, 0,85H, H_a); 6,03 ppm (s, 1H, H_b (-O-CH-CN); 7,65-8,50 ppm (m, 4H, aromat.H).

$C_{14}H_{16}N_2O_8$ (304,3) Ber.: C 49,41 H 4,73 N 8,23
Gef.: C 49,23 H 4,77 N 8,08

Darstellung des Isomerengemisches **48 a / 48 b**

47 b wurde unter den gleichen schonenden Bedingungen wie **47 a** entacetyliert, wobei aber nach der gleichen Aufarbeitung des Ansatzes das Isomerengemisch **48 a/ 48 b** erhalten wurde. Dieses war in allen physikalischen und spektralen Daten identisch mit dem Isomerengemisch, das bei der Entacetylierung des Gemisches von **47 a / 47 b** erhalten worden war. Umkristallisation aus Aceton/Petroläther.

Ausbeute : 136 mg (40,1% d.Th.)
Schmp.: 164,1°C (Gemisch der Isomeren)
Rf : 0,15 (Fließmittel 4)
$[\alpha]_D^{20}$ = + 131° (c= 0,34 in Äthanol) (Isomerengemisch)
IR-Spektrum (KBr) : deckungsgleich mit dem von **48 a**
NMR-Spektrum (DMSO d_6) : δ = 3,00-3,75 ppm (m, 6H, 2-H, 3-H, 4-H, 5-H und 6-H_2 des Zuckerrestes); 4,51 ppm (t, 1H, OH am C-6 des Zuckerrestes).

4,80-5,00 ppm (2d,die sich überlagern,2,5H,OH am C-3 und C-4 des Zuckerresters,0,5H,H_a des Zuckerrestes,J_{ae}= 3 Hz); 5,02-5,09 ppm (2d,die sich überlagern,1,5H,OH am C-2 des Zuckers,0,5H ,H_a des Zuckerrestes); 6,05 ppm (s,aufgespalten,1H,H_b,(-O-C<u>H</u>-CN)); 7,65-8,46 ppm (m,4H,aromat.H).

$C_{14}H_{16}N_2O_8$ (340,3)

Ber.:	C	49,41	H	4,73	N	8,23
Gef.:	C	49,12	H	4,82	N	8,13

L E B E N S L A U F

Am 24.Februar 1945 wurde ich als Sohn des Wolfgang und der Liselotte Fangerau, geb. Hofer, in Itzehoe geboren. Ich habe noch vier Geschwister.

Nach dem Besuch der Volksschule in Kellinghusen von 1951 bis 1955 ging ich bis 1958 in die Oberschule in Bad Bramstedt. Nach zweijähriger Schulzeit in Kiel besuchte ich bis März 1966 das Pädagogium Bad Sachsa, wo ich die Reifeprüfung ablegte. Anschließend begann ich am 1.April die Praktikantenzeit in der Bahnhofs-Apotheke in Heide/Holstein. Das Vorexamen bestand ich im März 1968.

Im Wintersemester 1968/69 begann ich an der FU Berlin das Pharmaziestudium, das ich am 22.10.1971 mit der Pharmazeutischen Staatsprüfung abschloß.
Im November 1971 begann ich unter der Leitung von Herrn Prof. H. Möhrle am Institut für Pharmazie mit der Abfassung der vorliegenden Arbeit. Seit dieser Zeit bin ich als wissenschaftlicher Assistent tätig.

F. Höpfner - Dissertationsdruck - 1 Berlin 12 - Pestalozzistraße 106
Tel.: 3128885 - 3138198